



ОПИСАНИЕ КЪМ ПАТЕНТ

ЗА

ИЗОБРЕТЕНИЕ

ПАТЕНТНО ВЕДОМСТВО

(21) Регистров № 98582

(22) Заявено на 25.02.94

(24) Начало на действие
на патента от: 11.09.95

Приоритетни данни

(31) (32) (33)

(41) Публикувана заявка в
бюлетин № на

(45) Отпечатано на 28.02.97

(46) Публикувано в бюлетин № 11
на 29.11.96

(56) Информационни източници:

(62) Разделена заявка от рег.

(73) Патентоприетател(и):

GRUPPO LEPETIT S.P.A.,

LAINATE (MJ) (IT)

(72) Изобретател(и):

Adriano Malabarba, Binasco

Romeo Ciabatti, Novate Milanese

Gianbattista Panzone, Cornaredo

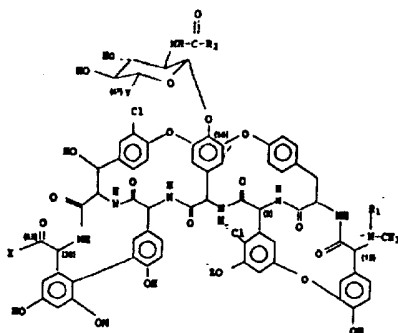
Alessandra Maria Marazzi, Saronno (IT)

(74) Представител по индустриална
собственост:Снежана Георгиева Виткова, 1404
София, ул. "Н. Каменов" бл. 252,
вх. 4, ап. 76

(86) № и дата на PCT заявка:

(87) № и дата на PCT публикация:

Издава се съгласно § 4 от Преходните и заключителните разпоредби на Закона за патентите на основание издаден патент на EP № 0596929 от 26.07.95

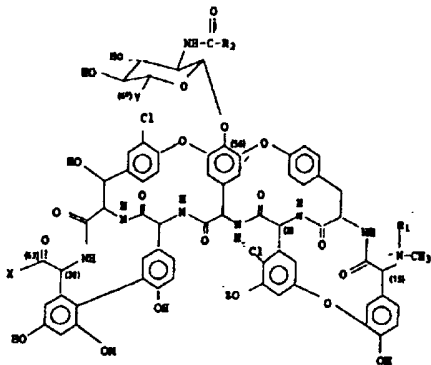
(54) АМИДНИ ПРОИЗВОДНИ НА АНТИ-
БИОТИК А 40926(57) Изобретението се отнася до нови
производни на антибиотик А 40926 с формула

Производните имат заместители като карбокси, (C₁-C₄) алкоксикарбонил, аминокарбонил, (C₁-C₄) алкиламинокарбонил, ди(C₁-C₄) алкиламинокарбонил или хидроксиметил при N-ациламиноглюкуроново остатък и хидроксид или полиаминов заместител в позиция 63 на молекулата на антибиотика. Съединенията имат висока активност in vitro срещу Enterococci и Staphylococci, резистентни на гликопептиди.

27 претенции

(54) АМИДНИ ПРОИЗВОДНИ НА АНТИ-БИОТИК А 40926

Изобретението се отнася до производни на антибиотик А 40926 с формула



в която

R_1 е водород или защитна група с amino функция;

R_2 е (C_8-C_{12}) алкил;

M е водород, α -D-манопиранозил или 6-0-ацетил- α -D-манопиранозил;

Y е карбокси, (C_1-C_4) алкоксикарбонил, аминокарбонил, (C_1-C_4) алкиламинокарбонил, ди (C_1-C_4) алкиламинокарбонил, при което алкилният радикал може да има заместител, избран от хидрокси, amino, (C_1-C_4) алкиламино и ди (C_1-C_4) алкиламино или хидроксиметил,

X е хидрокси или amino остатък с формула $-NR_3-alk_1-(NR_4-alk_2)_p$, $-(NR_5-alk_3)_q-W$, като

R_3 е водород, или (C_1-C_4) алкил;

alk_1 , alk_2 и alk_3 всяко независимо едно от друго представлява алкилен с права или разклонена верига с 2 до 10 въглеродни атома, p и q са цели числа, които независимо едно от друго представляват 0 или 1,

R_4 и R_5 независимо един от друг са водород, (C_1-C_4) алкил, или

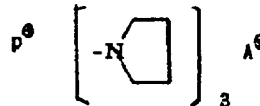
R_3 и R_4 заедно представляват (C_2-C_4) алкиленов остатък, свързващ двата азотни атома, при условие че p е 1; или

R_4 и R_5 заедно представляват (C_2-C_4) алкиленов остатък, свързващ двата азотни атома, при условие че p и q са 1;

W е водород, (C_1-C_4) алкил, amino, (C_1-C_4) алкиламино, ди (C_1-C_4) алкиламино, amino, замесен с един или два amino- (C_2-C_4) алкилни радикала, или с един или два (C_1-C_4) алкиламино- (C_2-C_4) алкилни радикала, или с един или два ди (C_1-C_4) алкиламино- $(C_2-$

$C_4)$ алкилни радикала, или когато p или q заедно са нула, заедно с остатъка $-NR_3-alk_1-$ могат също да бъдат пиперазино или 4-метилпиперазино, при условие че когато X е

5 хидрокси, Y е хидроксиметил, Z е водород или групата



10

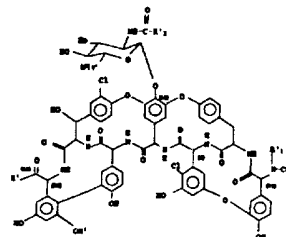
където A^q представлява анион на неорганичната или органичната киселина, или когато функцията на карбоксилната киселина присъства в остатъчните порции от антибиотика, може също да бъде вътрешен анион, получен от посочената функция на карбоксикиселината; и до техни фармацевтично приемливи присъединителни соли.

Числата, дадени в скоби в посочената формула I и във всяка следваща формула, показват възприетото номериране на съответните въглеродни атоми в молекулната структура на антибиотик А-40926 и неговите производни.

25 Антибиотик А-40926 е гликопептиден антибиотичен комплекс, който е изолиран от култура на Actinomadura, определена като Actinomadura, щам ATCC 39727, в културална среда, съдържаща асимилируеми източници на въглерод, азот и неорганични соли /патент EP 177882/. Съгласно метода, описан в посочения патент, отделянето на антибиотичния комплекс, чиито главни фактори са наименовани фактор А, фактор В, фактор В₀, фактор В₁, фактор РА и фактор РВ, включва обработването на ферментационните среди, след филтриране или след предварително пречистване, чрез афинитетна хроматография върху имобилизиран D-аланин-D-аланин.

Така идентифицираните А 40926 фактори могат да бъдат представени с формула II, в която R'_1 е водород, X' е хидрокси, Y' е карбокси, R'_2 е групата (C_9-C_{12}) алкил, и M' е α -D-манопиранозил или 6-0-ацетил- α -D-манопиранозилна група.

45



50

По-специално, антибиотик А 40926 фактор А е съединение с формула II, в която R'_1 е водород, X' е хидрокси, Y' е карбокси, R'_2 е н-децил и M' е α -D-манопиранозил. Съгласно най-новите изследвания веществото, идентифицирано като антибиотик А 40926 фактор В в цитирания EP 177882, е установено, че се състои от два сродни компонента. Антибиотик А 40926 Фактор B_0 е в същност главният компонент на фактор В и съответства на съединение от формула II, в която R'_1 е водород, X' е хидрокси, Y' е карбокси, R'_2 е 9-метилдецил и M' е α -D-манопиранозил.

Второстепенният компонент на фактор В и обозначен като фактор B_1 и се различава от фактор B_0 само по това, че R'_2 представлява н-ундецил, (E.Riva et al, Chromatographia, Vol.24, 295, 1987).

Антибиотик А 40926 фактор РА и фактор РВ се различават от фактори А и В с това, че остатъкът на манозата е заместен с остатък на 6-0-ацетил- α -D-манопираноза.

Антибиотик А 40926 фактор РА и РВ при някои ферментационни условия са главните антибиотични продукти на микроорганизма, продуциращ А 40926.

Факторите А и В на антибиотик А 40926 са главните трансформационни продукти, съответно на фактори РА и РВ на антибиотик А 40926, и в повечето случаи вече са налични във ферментационните течности.

Всички захарни остатъци са свързани към ядрото на антибиотик А 40926 чрез 0-гликозидни връзки.

Установено е, че антибиотик А 40926 фактор РА може да се трансформира в антибиотик А 40926 фактор А и антибиотик А 40926 фактор РВ може да се трансформира в антибиотик А 40926 фактор В в условия на алкална среда, което води до отделянето на ацетилната група от остатъка на манозата, без да се премества ацилната група в аминоклюкуронилния остатък.

В резултат на това, когато ферментационната среда или екстракт, съдържащ антибиотик А 40926, или негов концентрат се остави за известно време в условията на алкална среда (напр. воден разтвор на нуклеофилна основа при рН 9 цяла нощ), получава се антибиотичен комплекс А 40926, обогатен с фактор А и фактор В на антибиотик А 40926.

Антибиотик А 40926 фактор В може да бъде получен от комплекс А 40926 чрез хроматографско разделяне, използвайки метода, описан в EP 177882. Пречистен фактор B_0 , който при условията, описани в горепосочения EP, се пресмята в около 90 % фактор В, може да бъде получен чрез понататъшно пречистване на фактор В, например чрез многократни противофазови хроматографски процедури.

По-нови изследвания са показали (L. Zerilli et al., Rapid Communication in Mass Spectrometry, Vol.6, 109, 1992), че в антибиотичния комплекс А 40926 са открити също някои второстепенни фактори, които са идентифицирани с акронимите A_1 , RS-1, RS-2 и RS-3, съответно. Тези второстепенни фактори са разделени чрез HPLC и тяхната структура е определена чрез прилагане на газ-хроматография/мас-спектрометричен анализ към метанолизати на комплекса А 40926.

Всички споменати второстепенни фактори имат структури, съответстващи на основната структура на фактор А, B_0 и B_1 , независимо от остатъка от мастна киселина, свързан с аминоклюкуроновата част. По-специално, като се споменава формула II, R'_1 , X' и Y' имат същите значения, както по-горе, докато R'_2 представлява: 8-метилнонил във фактор A_1 , 7-метилоктил във фактор RS-1, н-нонил във фактор RS-2 и н-додецил във фактор RS-3.

Макар, че препаратите на антибиотичния комплекс А 40926, които обикновено се получават при ферментационните условия, описани в EP 177882, факторите, в които R'_2 е $(C_{10}-C_{11})$ -алкил, са много по-преобладаващи, като е възможно да се променят ферментационните условия, за да се увеличи количеството на второстепенните компоненти, в които R'_2 е C_9 или C_{12} алкил.

По време на обичайните процедури на пречистване на антибиотичния комплекс А 40926 факторите РА и РВ лесно се превръщат във фактори А и В.

Освен това беше намерено, че е възможно антибиотичният фактор А 40926, негов единичен фактор или смес от посочените фактори в какво да е съотношение в съответния N-ациламиноглюкуронилов агликон комплекс АВ, N- ациламиноглюкуронил агликон фактор А, N-ациламиноглюкуронил агликон фактор В

и манозилния агликон на А 40926 чрез контролирана кисела хидролиза на захарните части в изходния материал /EP-A-240609 и EP-A-228015/.

Предпочитани хидролизни условия за получаването на N-ацил-аминоглюкуронови аглиconi са тези, при които се използва смес от диметилсулфоксид/концентрирана солна киселина от 8:2 до 9,5:0,5 при температура около 40°C и 80°C.

N-Ациламиноглюкуроновите аглиconi на антибиотик А 40926 са представени с формула (II), в която R₁' и M' са водородни атоми, X' е хидрокси, Y' е карбокси и R₂' е (C₉-C₁₂) алкил.

Пълното отцепване на всички захарни остатъци в антибиотиците А 40926 дава агликона. Този хидролизен процес е описан в EP-A-240609.

Комплексът на антибиотик А 40926, неговите фактори, съответният N-ациламиноглюкурононил агликон, манозилният агликон, агликонът и техни смеси във всякакви съотношения са главно активни срещу грамположителни бактерии и Neisseriae.

В патентната заявка EP/PCT 92/00374 с приоритет EP 91104857 са защитени естерните производни (естерифицирани в позиция 6, която е карбокси групата в N-ациламиноглюкурононилния остатък) в антибиотика А 40926 и неговия N-ацил-аминоглюкурононил агликоно, например съединенията с формула II, в която X' е OH, Y' е (C₁-C₄) алкоксикарбонил и R₁', R₂' и M' имат същите значения, както посочените по-горе R₁, R₂ и M. Тези естерни деривати се получават чрез реакция на N¹⁵-защитено (в това описание терминът N¹⁵ се отнася до азотния атом на amino функцията, свързана с въглеродния атом на молекулата на А 40926, съответно означен с номер 15) или N¹⁵-свободен amino-субстрат на А 40926 или негов деаминозил дериват (като N-ациламиноглюкурононил дериват) с алканол в кисела среда, или N¹⁵-защитен дериват на А 40926 или негов деаминозил аналог с алкилов халид (за предпочитане бромид, хлорид или йодиди), най-добре в присъствие на акцептор на хидрохалова киселина и особено с излишък на избрания алканол в присъствие на концентрирана минерална киселина при температура между 0°C и стайна температура.

Получените съгласно посочения метод естерни производни на антибиотик А 40926 се използват като изходни продукти за получаване на производни на антибиотика А 40926 с формула I.

Както беше подчертано по-горе, контролираният естерификационен процес, използван за получаването на естерни деривати на А 40926 и деаминозилови А 40926 естерни деривати, които са изходни продукти за съединенията от това изобретение, включва и естерификационни реакции, в които А 40926 субстратът се обработва с излишък от изолирания алканол в присъствие на концентрирана минерална киселина при температура между 0°C и стайна температура за определено време с пространствен комплекс на групата, която трябва да бъде вкарана.

В някои случаи за предпочитане е да се защити първичната amino функция в позиция 15 на А 40926 прекурсора, така че да се намалят възможните нежелани странични реакции. Това може да се осъществи по известни от нивото на техниката методи, като тези, описани в книгите T.W. Greene, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Prey and Sons, New York, 1981, и M.Mc Omie "Protecting Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, New York, 1973. Тези защитни групи трябва да бъдат стабилни при условията на реакционния процес, не трябва да участват в нежелани взаимодействия с основната реакция и трябва да могат лесно да се отделят в края на реакцията.

Третичната бутоксикарбонилна група (t-BOC), карбоксибензилокси (CBz) и арилалкилните групи представляват подходящи аминокзащитни групи. Бензилирането със съответно субституирани бензилхалиди в присъствие на основа се провежда гладко с количествен добив и води изключително до образуването на съответния N¹⁵-бензилов дериват, без да бъде съпроводено от образуване на бензилов естер на карбокси групите.

Селективна защита на amino групата в позиция 15 може за предпочитане да се проведе чрез реакция с бензилов бромид в присъствие на водороденхалиден акцептор като третичен амин, без да е съпътствано от естерифициране на двете карбокси групи.

Условията за отделяне на N¹⁵-защитната група съвпадат с известните от нивото на техниката за тази цел и тези условия трябва да бъдат осигурени, след като се установи реактивоспособността на другите групи в молекулата.

Естерифицирано изходно съединение с формула II, в която M' е α -D-манопиранозил или 6-0-ацетил- α -D-манопиранозил, и Y' е (C₁-C₄) алкоксикарбонил може да бъде трансформирано в съответното съединение, където M' е водород чрез селективна кисела хидролиза. Както е описано в EP-A-240609, предпочитани хидролизни условия за продуцирането на деманозилни деривати на антибиотика А 40926 като N-ациламиноглюкуронилов агликон включват използването на смес от диметилсулфоксид/концентрирана солна киселина от 8:2 (обем/обем) до 9,5 : 0,5 (обем/обем) при температура между 40°C и 80°C. По този начин деманозилните деривати на естерите на А 40926 могат да бъдат получени в смес със съответния агликон и после се разделят чрез препаративна НРІС.

Условията на хидролиза могат подходящо да бъдат модифицирани, за да се промени съотношението на получаваните продукти. Например, ако се излиза от А 40926, естерифициран в позиция 6^B чрез повишаване съотношението разтворител:солна киселина до 78:1, като се поддържа реакционната температура под 60°C и се увеличава реакционното време до 7 дни, при което се получава съотношение на желания деманозилов дериват на А 40926, естерифициран в позиция 6^B към нежелания агликон на А 40926 около 1,4:1,0.

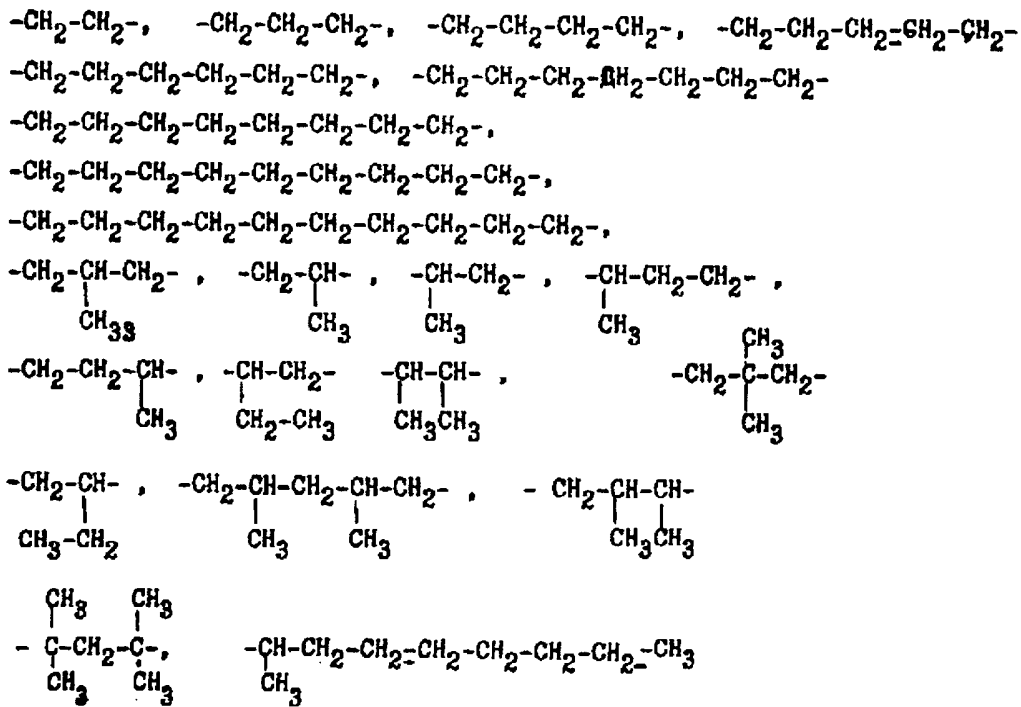
Протичането на реакциите се проследява чрез НРІС чрез известни от нивото на техниката методи. Въз основа на резултатите от тези опити средният специалист в областта може да прецени протичането на реакцията и

да реши кога да спре реакцията и да започне обработването на реакционните продукти чрез известни техники, които включват екстрахиране с разтворители, утаяване с неразтварящи вещества в съответствие с последващо разделяне и хроматография.

Естерните деривати, използвани като изходни материали за получаването на съединенията с формула (I) могат да бъдат съединения, съответстващи на всеки от няколкото фактори на прекурсорния комплекс на антибиотика А 40926, или смеси от два или повече компонента във всяко съотношение, съответстващи на различните фактори на А 40926 прекурсора. Споменатите смеси на естерни деривати могат да се получат чрез използване на комплекса на А 40926 или смес от факторите на прекурсорния А 40926 комплекс в производството на 6^B естера или чрез прилагане специални условия за изолиране/пречистване на получения естерен продукт (което може да променя оригиналните съотношения на факторите, характеризиращи прекурсорния комплекс А 40926), или чрез смесване в подходящи съотношения чистите естерни продукти, изолирани чрез процедури на обратно-фазово хроматографско разделяне, или получен чрез използване на чисти фактори А 40926 като прекурсори.

В описанието и в претенциите, когато друго не е упоменато, терминът "алкил" самостоятелно или с други заместители, включва въглеродни групи с права или разклонена верига; по-специално терминът (C₁-C₄) алкил представлява права или разклонена алифатна въглеродна верига с 1 до 4 въглеродни атома като метил, етил, пропил, 1-метилетил, бутил, 1-метилпропил, 1,1-диметилетил и 2-метилпропил.

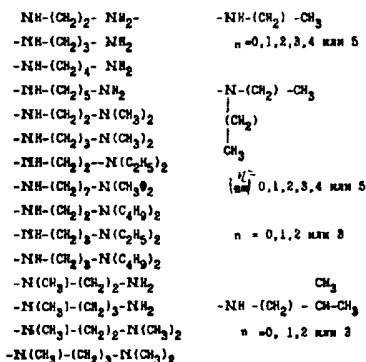
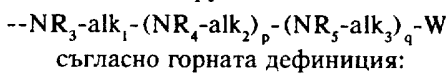
Използваните тук термини "алк₁", "алк₂", "алк₃" представляват независимо линейна или разклонена алкиленова верига с 2 до 10 въглеродни атома, например като следните:



Използваните тук термини “(C₂-C₄)алкилон остатък и (C₂-C₄)алкиленов остатък представляват алифатен въглеродороден остатък с права или разклонена верига с 2 до 4 въглеродни атома. Конкретни примери за такива вериги могат да бъдат взети от гореописаната листа.

Изразът “(C₁-C₄)алкоксикарбонил включва алкоксикарбонилни групи с права и разклонена верига като метоксикарбонил, етоксикарбонил, пропоксикарбонил, изопроксикарбонил, бутоксикарбонил, изобутоксикарбонил и трет-бутоксикарбонил.

По-долу са представени примери на aminoостатъчни групи



25

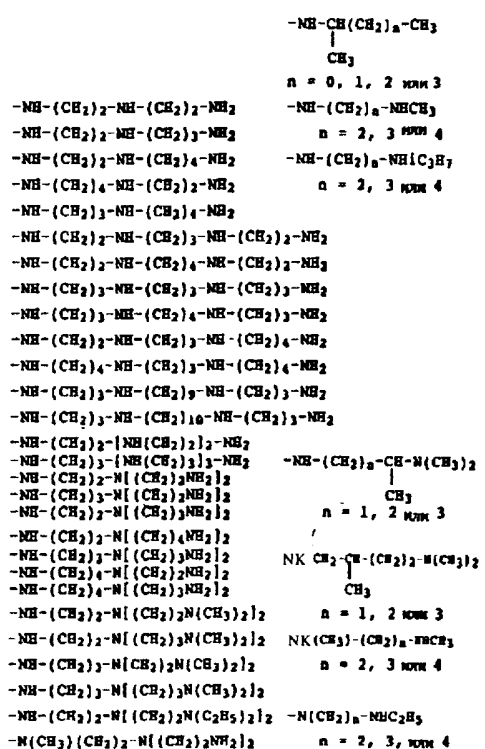
30

35

40

45

50

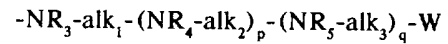


и други подобни.

Когато R_3 и R_4 (или R_4 и R_5) взети заедно представляват (C_2-C_4) алкиленов остатък, свързващ двата азотни атома, наситеният хетероциклически радикал, образуван в комбинация с остатъка alk_1 (или alk_2) и двата съседни азотни атома, за предпочитане е пиперазинов пръстен.

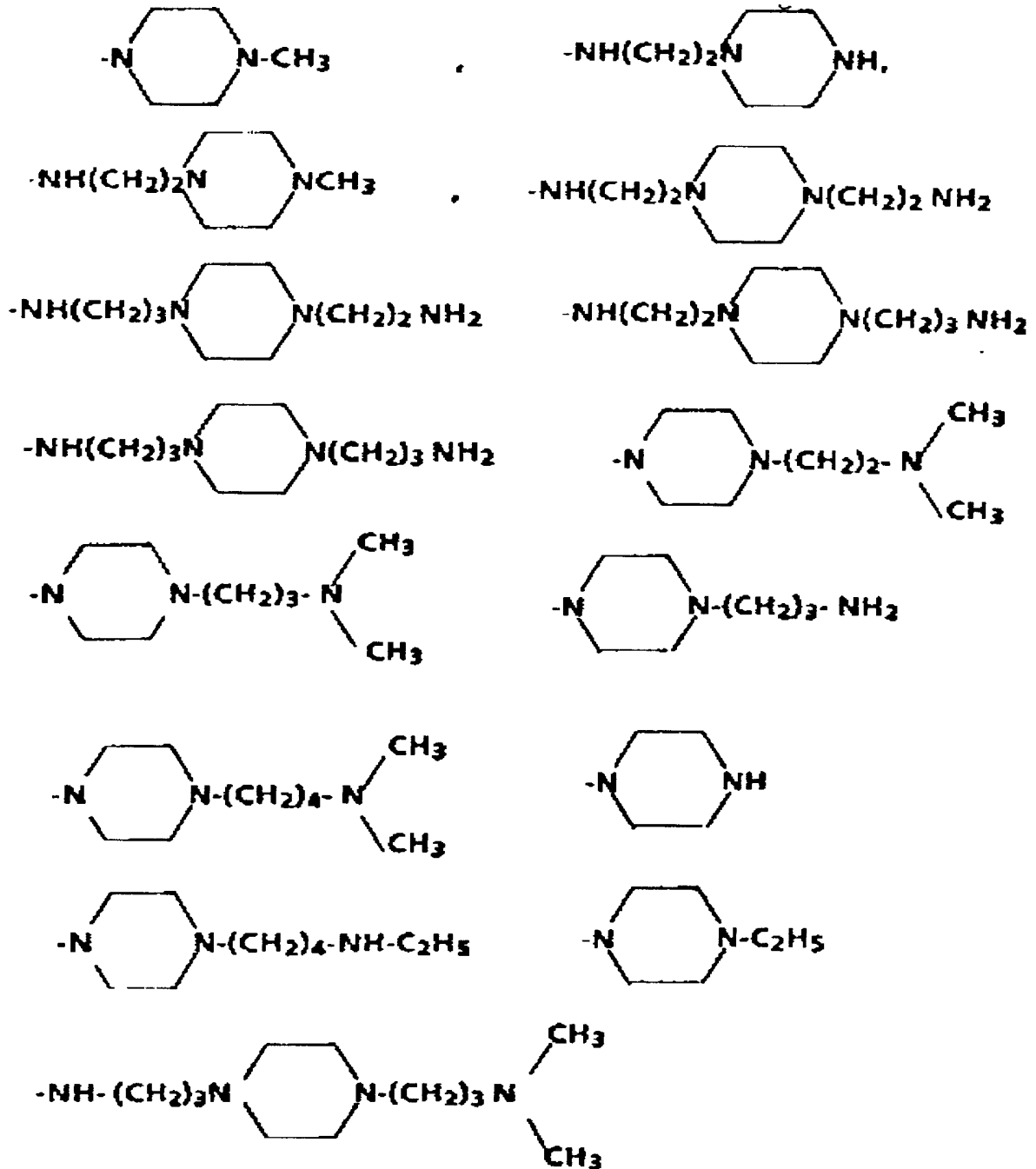
Например когато R_3 и R_4 (или R_4 и R_5)

взети заедно представляват (C_2-C_4) алкиленов остатък, свързващ двата азотни атома, или когато p и q едновременно са 0, W заедно с остатъка $-NR_3-alk_1-$ представлява пиперазино или 4-метилпиперазино, аминокостатъкът с формула:



може да означава някоя от следващите

групи:



Обхватът на изобретението включва съединенията с формула (I) които са производни на единичните фактори на прекурсорния комплекс на антибиотик А 40926, както и смеси на съединенията с формула I, деривати на самия комплекс А 40926 или на смесите на два или повече негови фактора в какъво да е съотношение. Съответно изменението на взаимните съотношения на компонентите на смесите на съединения с формула I, съответстващи на факторите на А 40926 комплекса, могат да се получат чрез използване на различни условия на ферментация, отделяне, изолиране и пречистване на прекурсорния антибиотичен комплекс А 40926, или чрез смесване на изолираните фактори на изходните естери с формула II в желаните съотношения преди тяхното превръщане в съединения с формула I или чрез смесване на чисти отделни фактори на съединенията според изобретението с формула I в желаните пропорции.

Предпочитани съединения с формула I са тези, в които:

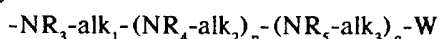
R_1 е водород или защитна група на аминокислотната функция;

R_2 е (C_9-C_{12}) алкил;

M е водород, α -D-манопиранозил или 6-0-ацетил- α -D-манопиранозил;

U е карбокси; (C_1-C_4) алкоксикарбонил, аминокарбонил, (C_1-C_4) алкиламинокарбонил, ди- (C_1-C_4) алкиламинокарбонил, където алкилният остатък може да носи заместител като хидрокси, amino, (C_1-C_4) алкиламино и ди- (C_1-C_4) алкиламино или хидроксиметил;

X е хидрокси или amino остатък с формула



R_3, R_4 и R_5 са H;

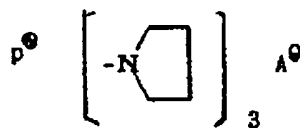
alk_1, alk_2 и alk_3 всяко независимо е алкилен с права или разклонена верига с 2 до 4 въглеродни атома;

p и q са цяло число, което поотделно е 0 или 1;

W е водород, (C_1-C_4) алкил, amino, (C_1-C_4) алкиламино, ди- (C_1-C_4) алкиламино, amino, субституиран с един или два amino- (C_2-C_4) алкилови остатъка, или с един или два (C_1-C_4) алкиламино- (C_2-C_4) алкилови остатъка, или с един или два ди- (C_1-C_4) алкиламино- (C_2-C_4) алкилови остатъка, или когато p и q са нула, заедно с остатъка NR_3-alk_1- , може да бъде също пиперазино или 4-метилпиперазино, при

условие, че когато X е хидрокси, U е хидроксиметил;

Z е водород или групата



където A^{\ominus} е анион на минерална или органична киселина, или когато функцията на карбоксикиселината присъства в остатъчната част от антибиотика, той може също да бъде вътрешен анион, образуван от споменатата карбоксикиселинна функция, както и техните фармацевтично приемливи присъединителни соли.

Друга предпочитана група на съединенията според изобретението са тези производни с формула I, в които R_2 е $(C_{10}-C_{11})$ алкил, M е α -D-манопиранозил и R_1, X, U и Z имат описаните по-горе значения, както и техните фармацевтично приемливи присъединителни соли.

Следваща предпочитана група съединения от изобретението представлява съединенията с формула I, в които R_1 е водород или защитна група на аминокислотната функция, за предпочитане водород;

R_2 е 7-метилоктил, n-нонил, 8-метилнонил, n-децил, 9-метилдецил, n-ундецил или n-додещил, за предпочитане n-децил, 9-метилдецил или n-ундецил, най-вече 9-метилдецил;

M е водород или α -D-манопиранозил, за предпочитане α -D-манопиранозил;

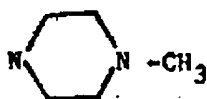
U е карбокси, (C_1-C_4) алкоксикарбонил, аминокарбонил, (C_1-C_4) алкиламинокарбонил, ди- (C_1-C_2) алкиламинокарбонил, където алкилният остатък може да има заместител като хидрокси, amino, (C_1-C_4) алкиламино и ди- (C_1-C_4) алкиламино или хидроксиметил, за предпочитане карбокси, метоксикарбонил, аминокарбонил, метиламинокарбонил, диметиламинокарбонил, (диметиламино) етиламинокарбонил или хидроксиметил;

X е amino остатък с формула $-NR_3-alk_1-(NH-alk_2)_p-(NR_5-alk_3)_q-W$ в която R_3 е водород,

alk_1, alk_2 и alk_3 всяко поотделно представлява алкилен с права верига с 2 до 4 въглеродни атома;

p и q са независимо един от друг нула или 1; и

W е amino, (C₁-C₄)алкиламино, ди(C₁-C₄)алкиламино, amino, субституиран с един или два amino(C₂-C₄)алкилни групи, или когато p и q са нула, взети заедно с остатъка -NR₃-alk₁- може също да бъде пиперазино или 4-метилпиперазино; за предпочитане X е amino, избран от групите -NH-(CH₂)₃-N(CH₃)₂, -NH(CH₂)₃-[NH(CH₂)₃]₂-NH₂, -NH-(CH₂)₃-N[(CH₂)₃NH₂]₂ и

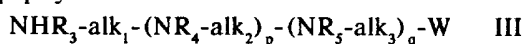


Z е водород; и фармацевтично приемливи присъединителни техни соли.

Съединенията с формула I, в която U е (C₁-C₄)алкоксикарбонил, R₁, R₂, M и Z имат значенията, посочени в началото на това описание, и X е amino остатък с формула -NR₃-alk₁-(NR₄-alk₂)_p-(NR₅-alk₃)_q-W където R₃, R₄, R₅, alk₁, alk₂, alk₃, p, q и W имат значенията, посочени в началото, са получени чрез амидиране на съответните производни с формула II, в която R'₁, R'₂ и M' имат същите значения, като R₁, R₂ и M, X' е хидрокси и Y' е (C₁-C₄)алкоксикарбонил.

Тези изходни съединения с формула II се получават, както е описано по-горе, и някои специфични примери за тях са описани във вече спомената заявка РСТ/ЕР 92/00374.

Процесът на амидиране включва кондензиране на споменатите изходни съединения с формула II с подходящ амин с формула III



където R₃, R₄, R₅, alk₁, alk₂, alk₃, p, q и W имат същите значения като споменатите в началото на описанието, в присъствие на кондензиращ агент или чрез образуване на "активиран естер" на споменатата изходна C⁶³ карбоксилова киселина с формула II в среда от инертен органичен разтворител.

Като инертни органични разтворители, използвани за реакцията на амидиране, могат да бъдат тези органични апротични разтворители, които не влизат в нежелани взаимодействия в процеса на реакцията и са способни поне частично да разтварят изходните продукти.

Примери за такива инертни органични разтворители са органични амиди, етери на гликоли и полиоли, фосфорамиди и сулфоксиди. Предпочитани инертни органични

разтворители са диметилформаид, диметоксидан, хексаметилфосфорамид, диметилсулфоксид и техни смеси.

Кондензиращият агент в реакцията според изобретението трябва да бъде подходящ за образуване на amidна връзка в органични съединения и особено в пептидният синтез.

Примери за кондензиращи агенти са диизопротилкарбодимид (ДИС) дициклохексилкарбодимид (ДСС) в присъствие на хидроксибензотриазол /ХБТ/, бензотриазолилуксирис-(диметиламино)фосфониев хексафлуорофосфат, бензотриазолилуксирис-(пирролидино)фосфониев хексафлуорофосфат и (C₁-C₄)алкил, фенил или хетероциклични фосфоразидати, диморфилфосфоразидати и дифенилфосфорохлоридат.

Предпочитани кондензиращи агенти са дифенилфосфоразидат, например азид на дифенилов естер на фосфорната киселина /ДРРА/, бензотриазолилуксирис-(диметиламино)фосфониев хексафлуорофосфат (ВОР), и бензотриазолилуксирис-(пирролидино)фосфониев хексафлуорофосфат (РуВОР).

Измежду последните два споменати кондензиращи агенти РуВОР е особено предпочитан, защото получаваният страничен продукт пирролидин предизвиква по-малко токсични проблеми, отколкото диметиламин.

В процеса на амидиране съгласно изобретението, описан по-горе, реагиращият амин обикновено се използва в моларен излишък, макар, че в някои случаи реакцията може да се проведе с добри добиви като се използва еквимолекулярно съотношение на реагиращия амин или в слаб моларен излишък, особено когато се използва ВОР или РуВОР като кондензиращ агент.

Изобщо, когато аминът е евтин продукт или е лесно достъпен реактив, използва се 2 до 10 пъти моларен излишък от амин III като 3-4-кратен моларен излишък е за предпочитане.

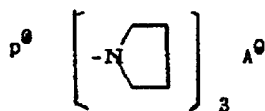
За провеждане на амидирането на горепосочения изходен продукт с формула II с амин с формула III в присъствие на кондензиращ агент, необходимо е реагиращият амин да е в състояние да образува сол с карбокси функцията (X' = хидрокси) на споменатия изходен материал. В случай, че аминът не е достатъчно силен, за да образува такава сол в избраната реакционна среда, необходимо е да се прибави солообразуваща база (като третичен алифатен или

хетероциклически амин, каквито са триетиламин, N-метилпиролидин или N-метилпиперазин, които не могат да образуват амидна връзка с карбокси функцията) към реакционната смес в поне еквимолекулярно количество по отношение на изходния материал.

Използването на малък моларен излишък от реагиращия амин и прибавяне на солообразуваща база е подходящо, когато реагиращият амин е много скъп или трудно получаващ се продукт.

Примери за такива солообразуващи бази са третични органични алифатни или хетероциклически амини като триетиламин, триетиламин, N-метилпиролидин или пиколин и други.

Кондензиращият агент обикновено се използва в еквимолекулярно количество или в слаб моларен излишък например от 1,1 до 1,7 пъти и за предпочитане 1,2 до 1,5 пъти над изходното съединение А 40926. Забелязано е, че когато се използва като изходен продукт, съединение с формула II, където Y' е (C₁-C₄) алкоксикарбонил и голям излишък (около 3 моларен) от RuBOP като кондензиращ агент и голям излишък от реагиращия амин (около 6 до 10 пъти моларен излишък) получават се амидни крайни продукти с формула I, в която Z е



където A[⊖] има същото значение, както по-горе, и добивът на получените продукти е почти количествен.

Реагиращият амин също може да бъде подходящо въведен в реакционната среда под формата на съответната присъединителна с киселина сол, например хидрохлорид. В този случай се прибавя поне двойно моларно съотношение и за предпочитане 2 до 4 пъти моларен излишък от силна основа, способна да освобождава амина от неговите соли. Също в този случай подходящи основи са обикновено третични органични алифатни или хетероциклически амини, които не могат да образуват амидна връзка с карбокси функцията, на описаните по-горе. Особено в някои използването на сол на амина, която после се освобождава in situ с гореспомнатите основи, е силно предпочитано, най-вече когато солта е

по-стабилна, отколкото съответният свободен амин.

Реакционната температура варира значително в зависимост от различните изходни продукти и реакционните условия. За предпочитане реакцията се провежда при температура между 0-30°C.

Също така реакционното време може да варира значително в зависимост от кондензиращия агент и от другите параметри на реакцията. Най-често кондензационната реакция се провежда за период от около 1 час до около 24-48 часа.

Във всеки случай осъществяването на реакцията се контролира чрез TLC или за предпочитане с HPLC по методи, известни от нивото на техниката.

Въз основа на резултатите от тези изследвания специалистът в областта е в състояние да отчита протичането на реакцията и да реши кога да спре реакцията и да започне обработването на получената реакционна маса според известни пер се техники, които включват екстрахиране с разтворители, утаяване чрез прибавяне на утаяващи вещества, и др., съвместно с други подходящи операции на разделяне и пречистване, например чрез колонна хроматография.

Обикновено, когато се използват кондензиращи агенти като споменатите по-горе, не е необходимо да се защити N¹⁵-амино функцията на изходния естер с формула II. Обаче може да е полезно да се използват изходни естери, защитени при тези функции, когато те са получени директно от предшестващия стадий на реакцията, при което тези естери се получават от прекурсор на антибиотик А 40926. Освен това възможно е в някои случаи в зависимост от условията на реакцията на амидиране да е необходимо или поне за предпочитане да се защити N¹⁵-амино функцията на изходния естер с формула II.

В тези случаи N¹⁵-амино функцията може да бъде защитена по известни методи от нивото на техниката, като описаните в цитираната по-горе литература, относно защитата на А 40926 прекурсора за получаването на естерите с формула II, в която Y' е (C₁-C₄)-алкоксикарбонил.

Азот-защитните групи трябва да бъдат стабилни при условията на реакционния процес, не трябва да влизат в нежелани странични реакции по време на реакцията на

амидиране, и трябва да могат лесно да се отцепват и да се отделят от реакционната среда в края на реакцията, без да водят до изменение на новообразуваната амидна връзка и на общата структура на съединенията, например захарните остатъци.

Примери за N-защитни групи, които могат успешно да бъдат използвани в метода на изобретението за защита на N¹⁵-първичната amino функция на естерния изходен материал и когато е подходящ, за всички други amino функции, съответно характеризиращи амина III, който не би трябвало да се включва в реакцията на амидиране, са карбаматобразуващи реагенти, характеризиращи се със следните оксикарбонилни групи: 1,1-диметилпропионил оксикарбонил, терц-бутилоксикарбонил, винилоксикарбонил, цинамил оксикарбонил, бензилоксикарбонил, p-нитробензилоксикарбонил, 3,4-диметокси-6-нитробензилоксикарбонил, 2,4-дихлорбензилоксикарбонил, 5-бензоксазолметилоксикарбонил, 9-антраилметилоксикарбонил, дифенилметилоксикарбонил, изоникотиноил оксикарбонил, дифенилметилоксикарбонил, 5-бензилоксикарбонил и други.

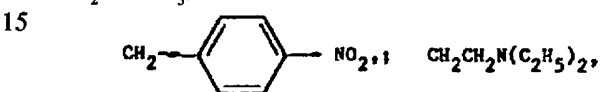
Обикновено тези защитни групи се отделят при приключване на реакцията на амидиране чрез третиране със силно концентрирани органични киселини като трифлуороцетна киселина /ТРА/ и с разредени минерални киселини. За да се избегне рискът от хидролиза на захарните остатъци, прикрепени за ядрото на антибиотичната молекула, също е възможно да се отделят някои от защитните групи при различни условия като каталитично хидрогениране при използването на паладий/въглерод като катализатор. Иначе е възможно да се отделят amino защитните групи, посочени по-горе при контролирани киселинни условия, например ниски температури и/или кратко реакционно време.

Когато реакцията на амидиране се провежда чрез междинно образуване на "активирани естери" на изходното съединение с формула II, този "активиран естер" обикновено се получава in situ, или по избор може да бъде изолиран и тогава да реагира с амина с формула III. Изходният продукт с формула II за предпочитане се защитава при N¹⁵-amino функцията, за да се избегне нежелана реакция на получения реактив от активирания естер с N¹⁵-amino групата. Защита на тази група може да се получи по известни

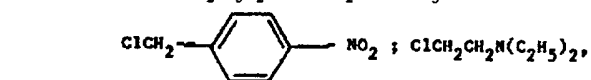
методи и процедури, както е описано по-горе.

Образуването на "активни естери" на карбоксилни киселини е описано по обобщен начин в Fieser and Fieser, Reagent for organic synthesis, John Wiley and Sons Inc., pages 129-130 (1967).

Примери за такива активирани естери, образуващи реактиви, които могат подходящо да бъдат използвани в метода съгласно изобретението са описани в R. Schwyzer et al, Helv.Chim.Acta, 1955, 38, 69-70 и включват тези естерни деривати с формула II, в които X е CH₂CN, CH₂COOC₂H₅, CH₂(COOC₂H₅)₂, CH₂COCH₃,



които могат да бъдат получени от изходен материал с формула II, в която R'₁ е подходяща защитна група и X' е хидроксид, чрез реакция с ClCH₂CN, BrCH₂COOC₂H₅, BrCH(COOC₂H₅)₂, ClCH₂COCH₃,



25 съответно в присъствие на акцептор на киселина в разтворител. Предпочитан реактив от този тип е хлороацетонитрил. В този случай самият хлороацетонитрил, диметилформамид /ДМФ/ или диметилсулфоксид /ДМСО/ могат да бъдат използвани като разтворители.

Обикновено инертни органични разтворители, които могат да се използват за образуване на "активирани естери" са тези органични апротични разтворители, които не влизат в нежелани странични реакции и са способни поне отчасти да разтворят изходните карбоксилни киселини.

Примери за такива инертни органични разтворители са органични амиди, етери на гликоли и полиоли, фосфорамиди, сулфоксиди и ароматни съединения. Предпочитани инертни органични разтворители са диметилформамид, диметоксиетан, хексаметилфосфорамиди, диметилсулфоксид, бензен, толуен и техни смеси. Най-предпочитани са разтворители като ацетонитрил, диметилсулфоксид, диметилформамид. Образуването на активиран естер обикновено се провежда в присъствие на основа, която не влиза в странични реакции като триалкиламин, например триетиламин, натриев или калиев карбонат или бикарбонат. Обикновено основата се използва в 2 до 6

моларно съотношение към изходния материал и за предпочитане се използва в около 3 моларен излишък. Предпочитана основа е триетиламин.

“Активируваният естер”, образуващ реактив се използва в голям излишък по отношение на С 63 изходната карбоксилна киселина с формула II, най-често в 5 до 35 моларно съотношение, и за предпочитане се използва в около 20 до 30 пъти моларен излишък. Температурата на реакцията е между 10° и 60°С, за предпочитане между 15°С и 30°С. Обичайно реакционното време зависи от другите специфични параметри на реакцията и може да варира между 3 и 48 часа.

Протичането на реакцията може да бъде проследено чрез HPLC или TLC, за да се определи кога реакцията да се счита за приключена и процедурите за отделяне на желаните междинни продукти могат да започнат. Междинният “активиран естер” може директно да се използва в същата реакционна среда, в която е получен, но по-често той се изолира чрез утаяване с неразтварящо се вещество или чрез екстрахиране с разтворители и се използва като такъв без следващо пречистване в следващия стадий на реакцията. По желание обаче той може да се пречисти чрез колонна хроматография или чрез обратно фазова колонна хроматография.

Полученият междинен “активиран естер” после реагира с моларен излишък от аминокислотното с формула III в присъствие на органичен полярен разтворител при температура между 5°С и 60°С, за предпочитане между 10°С и 30°С.

В този случай органичният полярен разтворител може да бъде полярен протичен или апротичен разтворител.

Предпочитани органични поларни протични разтворители са нисши (C₂-C₄) алканоли като етанол, n-пропанол, изопропанол, n-бутанол и други, или техни смеси, за предпочитане използвани в суха форма. Предпочитани органични поларни апротични разтворители са N,N-диметилформамид /DMF/, хексаметилфосфорамида /HMFA/, или техни смеси, 1,3-диметил-3,4,5,6-тетрахидро-2(1H)-пиримидон /DMPU/, диметилсулфоксид /DMSO/ или диметоксиетан /DME/.

Реакцията на “активирувания естер” с избрания амин от формула III може да се проведе при температура между 5°С и 60°С, като предпочитаната температура е между 10°С-30°С, най-добре между 20°С и 25°С, докато предпочитаното моларно съотношение между активирувания естер-междинен продукт и амина III, както е дефиниран по-горе, е от 1:5 до 1:30, за предпочитане от 1:10 до 1:20. Протичането на реакцията може да се контролира както обикновено чрез TLC или HPLC.

В случай, когато реагиращият амин е полиамин с формула III, една или повече от неговите аминокислотни групи, които не са включени в образуването на amidна връзка, могат да бъдат подходящо защитени. В тези случаи подходящи защитни групи са също споменатите преди това за N¹⁵.

След това получените N⁶³-защитени amidни деривати се освобождават при подобни условия, както са описани за депротекцията в 15-позиция.

Съединенията с формула I, където У е хидроксиметил, R₁, R₂, М, Х и Z имат значенията, посочени в началото на описанието, могат да бъдат получени чрез редукция на съответните производни с формула I, в която R₂, М, Х и Z имат споменатите значения, както по-горе, У е (C₁-C₄) алкоксикарбонил и R₁ е подходяща защитна група за N¹⁵-амино функцията, с борохидрид на алкален метал, за предпочитане натриев борохидрид, калиев борохидрид и натриев цианоборохидрид при температура между 0°С и 40°С във водна или водноалкохолна среда. Депротекцията на N¹⁵-амино функцията може да се проведе съгласно условията, описани преди това.

Използването на този метод е желателен най-вече за получаването на съединения с формула I, в която У е хидроксиметил, Х е хидрокси, R₁, R₂ и М имат значенията, посочени в началото на това описание, и Z е водород. В този случай изходният продукт, подложен на редукция при описаните по-горе условия, е съединение с формула II, в която У' е (C₁-C₄) алкоксикарбонил, Х' е хидрокси, R'₂ и М' имат същите значения, както съответно R₂ и М, и R'₁ е подходяща защитна група за N¹⁵-амино функцията. Специфичното получаване на споменатото изходно

съединение е описано в заявка РСТ/ЕР 92/00374 и се осъществява по общ метод за получаването на изходния естер с формула II, описано по-горе.

Обикновено използваната хидроалкохолна среда за споменатите реакции на редукция е смес от вода и водно-разтворим или частично смесващ се нисш алканол, като съотношението вода/нисш алканол е между 40:60 до 90:100 (обем/обем), за предпочитане между 60:40 (обем/обем) и 68/32 (обем/обем), и най-добре е 65/35 (обем/обем).

Макар че в някои случаи реакцията се осъществява и в присъствие на малки количества вода като смеси от вода/нисш алканол 30/70 или 20/80, обикновено скоростта на реакцията е много ниска, когато съотношението вода/нисш алканол е под 40/60.

Предпочитани нисши алканоли са (C_1 - C_4) алкилови алкохоли с права или разклонена верига, между които най-предпочитани са н-бутанол, етанол и метанол.

В някои случаи може да се прибави малко количество от полярен ко-разтворител през времето на протичане на реакцията, за да се разтвори напълно изходният материал. Такива ко-разтворители са N,N-диметил-формамид, 1,3-диметил-3,4,5,6-тетрахидро-2(1H)-пиримидон /ДМРУ/, диметилсулфоксид. Понякога се прибавят и различни количества диетилов етер, за да се избегне пенообразуването.

Като борохидрид на алкален метал най-предпочитан е натриевият борохидрид. Използваното количество от борохидрид на алкален метал може да варира в зависимост от вложения разтворител и температурата на реакцията, но се препоръчва да се използва количество на борохидрида на алкалния метал, което да е в голям излишък над стехиометрично изискваното, така че рН на реакционната смес да бъде неутрално или алкално, за предпочитане между рН 7 и 10. Обикновено моларното съотношение между борохидрида на алкалния метал и антибиотичния изходен материал е между 50 и 300.

Температурата на реакцията може да варира значително в зависимост от специфичните изходни продукти и от реакционните условия. Най-добре е реакцията да се провежда при температура между 0 и 40°C, или оптимално при стайна температура.

Реакционното време може също да варира значително в зависимост от другите параметри на реакцията, но трябва внимателно да се контролира. Обикновено реакцията приключва за около 1-4 часа. Ако реакцията продължи повече от 4 часа, могат да протекат нежелани странични реакции, които също могат да предизвикат разкъсването на някои пептидни връзки в ядрото на молекулата.

Във всеки случай протичането на реакцията се контролира чрез TLC или за предпочитане с HPLC по известни от нивото на техниката методи. Въз основа на резултатите от тези изследвания специалистът в областта е в състояние да отчита курса на протичане на реакцията и да прецени кога да спре и да започне обработването на реакционната смес чрез известни пер се техники, които включват екстрахиране с разтворители, утаяване чрез прибавяне на утаители и други, заедно с по-нататъшно разделяне и пречистване с колонна хроматография, ако е необходимо.

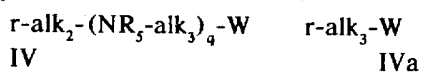
След като реакцията приключи, излишъкът от борохидрид на алкален метал се елиминира чрез прибавяне на подходящо количество от киселина като (C_1 - C_4) алкилорганична киселина, (C_1 - C_6) алкилсулфонова киселина или арилсулфонова киселина и други, разтворени в полярен протичен разтворител като (C_1 - C_4) алкилов алкохол.

Алтернативно съединенията с формула I, в която У е хидроксиметил, R_1 , R_2 и М имат значенията от началото на това описание, Х е аминокс остатък $-NR_3$ -alk₁-(NR₄-alk₂)_p-(NR₅-alk₃)-W, където R_3 , R_4 , R_5 , alk₁, alk₂, alk₃, p, q и W имат същите значения, както в началото на това описание, и Z е водород, се получават чрез провеждане на същата процедура на амидиране, описана по-горе, чрез реакция на съответното съединение с формула I, в която У е хидроксиметил, Х е хидрокси, R_1 , R_2 и М имат същите значения, както по-горе, и Z е водород, с амин с формула III, както е описано по-горе.

В този случай реакцията на амидиране също може да се провежда чрез използване на подходящ кондензиращ агент или посредством междинното образуване на "активиран естер", както е описано по-горе, за получаването на съединения с формула I, в която У е (C_1 - C_4) алкоксикарбонил.

Обикновено амидирането на дериватите с формула I, в която У е хидроксиметил, Х е хидрокси и Z е водород, при използване на РуВОР като кондензиращ агент, води до образуването на крайни продукти с формула I, където Z представлява водород, дори когато РуВОР е използван в голям моларен излишък по отношение на изходната карбоксилна киселина. Когато реакцията на амидиране се провежда през образуването на "активиран естер" на съединението с формула I, в която Х е хидрокси, У е хидроксиметил и Z е водород, за предпочитане трябва да се защити N¹⁵-амино групата на това съединение чрез защитни групи, описани по-горе.

По-нататъшната процедура за получаването на съединението с формула I, в която У е (C₁-C₄)алкоксикарбонил или хидроксиметил, R₁, R₂, М и Z са, както в началото на това описание, Х представлява аминоксигмент с формула -NR₃-alk₁-(NR₄-alk₂)_p-(NR₅-alk₃)_q-W, където R₃, R₄, R₅, всеки независимо представлява водород или (C₁-C₄)алкил, alk₁, alk₂, alk₃ и W са, както са дефинирани в началото на това описание, р и q са 1 или нула, се състои в реакция на N¹⁵-защитен дериват на N⁶³ амид (в това отношение терминът N⁶³ означава азотен атом от карбоксиамидната група, включваща въглероден атом, обозначен с номер 63 в молекулата на А 40926) с формула I, в която У, R₂, М и Z са, както по-горе, и Х е аминоксигмент с формула -NR₃alk₁-NHR₄, където R₃, R₄ и alk₁ са, както по-горе, или -NR₃-alk₁-NR₄-alk₂-NHR₅, където R₃, R₄, R₅, alk₁ и alk₂ са, както преди това, с един амин, реактив с формула IV или IVa съответно.



където символите R₃, alk₂, alk₃ и W са, както по-горе, q е нула или 1 и r представлява хало, метансулфонил или тозил в присъствие на рецептор на киселина и в инертен разтворител.

Защитеният N¹⁵-дериват на N⁶³ амида, описан по-горе, се получава съгласно общите методи за получаване на съединенията с формула I от изобретението. Депротекцията на N¹⁵-амино функцията се провежда според условията, описани по-рано.

Също така горепосоченият метод за алкилиране може да бъде използван за защита

на тези аминоксигменти, различни от N¹⁵-амино групата на N⁶³ амидното съединение с формула I и/или на аминоксигмента IV или IVa, които не участват в реакцията на алкилиране. Получените N⁶³-защитени амиди могат да бъдат депротектирани при описаните по-горе условия.

Използваните във всички споменати реакции защитни групи са както преди това описаните. Но по-специално внимание трябва да се отдели на стадия на депротекция на дериватите с формула I, където У е хидроксиметил. В действителност за тези съединения, когато защитната група при позиция 15 е лесно отцепваща се при киселинни условия, стадият на депротекция е критичен, което се дължи на относително бързо конкуриращо изместване на съответния ацилглюкозаминоов остатък в 56-позиция, например чрез обработване със суха трифлуорооцетна киселина /ТРА/. Все пак тези нежелани странични реакции могат лесно да бъдат сведени до минимум. Когато се използва t-бутилоксикарбонил (t-BOC) като защитна група, могат да бъдат приложени следните условия: обработване с ТРА за една минута при стайна температура или за 10 до 30 минути при 0 до 5°C, последвано от бързо утаяване на реакционния продукт с диетилов етер или със смес от метанол/диетилов етер при 0 до 5°C. Обратно със съединения с формула I, в която У е карбокси или метоксикарбонил, наблюдавано е, че остатъкът на 56-ациламиноглюкуроновата киселина е значително по-стабилен към трифлуорооцетна киселина. В действителност образуването на следи от съответните деглюкуронилови псевдоагликони се наблюдават само след 1 час реакция. Все пак в тези случаи t-BOC-депротекцията се провежда за 30 минути.

Друг подходящ метод за отделяне на t-BOC защитната група, без съществено да се повлияват другите части от молекулата, се състои в обработването със суха трифлуорооцетна киселина в дихлорометан при 0-10°C за 1-2 часа, последвано от утаяване на реакционния продукт чрез прибавяне на утаител.

Съединенията с формула I, в която R₁, R₂, М, Х и Z са дефинирани, както в началото на това описание, и У е карбокси, се получават от съответните съединения с формула I, където

У е (C_1-C_4) алкоксикарбонил, за предпочитане метоксикарбонил, и всички други заместители са, както по-горе, чрез обработване с водни хидроксиди на алкални метали (NaOH или KOH) при температура между 0 и 30°C (повисоки температури трябва да се избягват, за да се предотврати епимеризацията при въглеродния атом в позиция 3 в молекулата), в среда от инертен органичен разтворител като ди-(нисш алкил) етер или етилен гликол или тетраhydroфуран.

Съединенията с формула I, където R_1 , R_2 , M, X и Z са дефинирани, както в началото на това описание, и У е аминокарбонил, (C_1-C_4) алкиламинокарбонил, ди(C_1-C_4) алкиламинокарбонил, като алкиловият остатък може да носи заместител, избран от хидрокси, amino, (C_1-C_4) алкиламино и ди(C_1-C_4), могат да бъдат получени съгласно следните процедури:

1) Получаване на производни, в които У и остатъкът COX при C^{63} представляват същата група (C_1-C_4) алкиламинокарбонил или ди(C_1-C_4) алкиламинокарбонил, в която алкилният остатък може да има заместител като amino, (C_1-C_4) алкиламино и ди(C_1-C_4) алкиламино;

а) Амидиране на антибиотичен комплекс А 40926, неговият деманозилдериват или техни фактори /с формула II/, X' =хидрокси, U' =карбокси, R'_1 , R'_2 и M' са както R_1 , R_2 и M по-горе), с голям излишък на съответния амин с формула III, където R_3 , R_4 , R_5 , alk_1 , alk_2 , alk_3 , r и q и W имат значения, съвместими с по-горе дефинираните карбоксиамидни остатъци У и COX. Тази реакция на амидиране се провежда при същите условия, както по-горе.

2) Получаване на производни, в които У и остатъкът COX при C^{63} са различни карбоксиамидни остатъци, като значенията на У са аминокарбонил, (C_1-C_4) алкиламинокарбонил, ди(C_1-C_4) алкиламинокарбонил, в които алкилният остатък може да носи заместител като хидрокси, amino, (C_1-C_4) алкиламино и ди(C_1-C_4) алкиламино, а X е amino-остатък, дефиниран в началото на това описание:

Метод А: Амидиране на съответното съединение с формула I, в която R_1 , R_2 , M и Z имат значенията, дефинирани в началото на това описание, X е amino-остатък с формула $-NR_3-alk_1-(NR_4-alk_2)_p-(NR_5-alk_3)_q-W$;

където всички заместители имат същите значения, както в началото на това описание, и У е карбокси; чрез реакция със съответния амин се образува горedefинираният карбоксиамиден остатък У в присъствие на кондензиращ агент (PyBOP или DPPA) при описаните преди това условия;

Метод Б: а) защита на същия изходен продукт от метод А при N^{15} -амино функцията (с терц.ВОС или СВz групи); б) формиране на "активиран естер" на карбокси групата в позиция 6^B (чрез реакция с хлороацетонитрил); с) реакция на остатъка на "активирания естер" на посоченото съединение със съответния амин до образуване на по-горе дефинирания карбоксиамиден остатък У при същите, описани преди това условия; д) подходящо отцепване на N^{15} -защитната група по описани преди това методи (чрез ацидолиза или хидрогенолиза).

Съединенията с формула I, където M е водород, обикновено се получават съгласно процедурите, описани по-горе, като се използва съответното изходно съединение с формула II, където M' е H.

Освен това една алтернативна процедура за получаване на съединение с формула I, където M е водород, се състои в превръщане на съединение с формула I, където M е α -D-манопиранозил или 6-0-ацетил- α -D-манопиранозил в съответното съединение, в което M е водород, посредством селективна кисела хидролиза съгласно условията, описани в EP-A-240609.

Както е описано по-горе, съединенията с формула I могат да бъдат неразделни съединения, съответстващи на отделните фактори на прекурсорния антибиотик А 40926 или техни смеси във всякакво съотношение. Поради това в повечето случаи биологичната активност на смесите е много подобна на тази на отделните фактори и тогава няма специален интерес да се разделят индивидуалните компоненти, ако е получена смес. Но когато се търси получаване на чисти фактори с формула I, те могат да бъдат разделени индивидуално от техните смеси чрез реверсивно-фазова колонна хроматография по метода, описан в EP 177882. Алтернативно те могат да бъдат получени, като се използват неразделни изходни продукти с формула II, съответстващи на отделните фактори на антибиотичния комплекс А 40926.

При общите методи и описаните тук условия може да се използва прекурсорния комплекс А 40926, който съдържа един от индивидуалните фактори (например фактор В₀) в преобладаващо количество по отношение на останалите компоненти на сместа (60 % чрез HPLC). Така съединенията с формула I, получени от такъв прекурсор посредством метода на това изобретение, когато не са специално подложени на гореспоменатата процедура на разделяне, обикновено се състоят от смеси, в които преобладаващият компонент съответства на същия фактор, чието съотношение е преобладаващо в посочения прекурсорен комплекс А 40926.

Метод за получаване на А 40926 комплекс, обогатен на неговия фактор А и/или В₀ или РА и/или РВ е описан в EP-A-259781.

Съединенията от изобретението притежават базични функции, които могат да образуват соли с органични и неорганични киселини по известни методи.

Подходящи присъединителни с киселина соли на съединенията от настоящото изобретение са тези соли, образувани чрез стандартни реакция с органични и неорганични киселини като хлороводородна, бромоводородна, сярна, фосфорна, оцетна, трифлуорооцетна, трихлорооцетна, сукцинова, лимонена, аскорбинова, млечна, малеинова, фумарова, палмитинова, холова, памоева, лигава киселина, глутаминова, камфорова, глутарова, гликолова, фталова, винена, лауринова, стеаринова, салицилова, метансулфонова, бензенсулфонова, сорбинова, пикринова, бензоена, канелена и други.

Съединенията с формула I, в които Х е хидрокси и У е хидроксиметил, и съединенията, в които У е карбокси, притежават също киселинна функция, която може да образува соли с органични и неорганични бази.

Примери за бази, които могат да образуват соли със съединенията от настоящото изобретение, притежаващи киселинна функция, са хидроксида на алкални или алкалоземни метали, като натриев, калиев, калциев, магнезиев, бариев хидроксид, амоняк, и алифатни, алициклични или ароматни органични амини, като метиламин, диметиламин, триетиламин, етаноламин и пиколин.

Превръщането на съединения от изобретението, които са "несоли" в съответните присъединителни соли, и обратното-трансформирането на присъединителна сол от изобретението в несолева форма, се осъществява чрез известни от нивото на техниката методи, и също се включва в настоящото изобретение.

Така съединение с формула I може да се превърне в съответните соли с киселини или основи чрез разтваряне или суспендиране на несолта във воден разтвор и прибавяне на слаб моларен излишък от избраната киселина или основа. Полученият разтвор или суспензия след това се лиофилизира до отделяне на желаната сол.

В случай, че крайната сол е неразтворима в разтворител, в който "несолевата" форма е разтворима, солта може да се отдели чрез филтриране на разтвора на "несолевата" форма след прибавяне на стехиометрично количество или слаб моларен излишък от избраната киселина или основа.

"Несолевата" форма може да се получи от съответната сол, разтворена във воден разтворител, който след това се неутрализира до свободна "несолева" форма. Тя след това се отделя чрез екстракция с органичен разтворител или се превръща в друга присъединителна сол чрез прибавяне на избраната киселина или основа и се обработва, както по-горе.

Когато след неутрализацията е необходимо изсолване, може да се използва обикновена процедура на изсолване. Подходящо е да се използва колонна хроматография върху полидестринови смоли с контролирани шупли като Сефадекс LH 20 или силанизиран силикагел. След елуиране на нежеланите соли с воден разтвор, желаният продукт се елуира с линеен или стъпаловиден градиент от смес вода и полярен или аполярен органичен разтворител като ацетонитрил/вода от 50:50 до около 100 % ацетонитрил.

Известно е, че образуването на соли с фармацевтично приемливи киселини и основи или нефармацевтично приемливи киселини и основи може да се използва като начин за пречистване. След образуването и изолиране солта на съединение с формула I може да се трансформира в съответната несол или фармацевтично приемлива сол.



Като се има пред вид близостта в свойствата на съединенията с формула I и техните соли, описаното в настоящата заявка относно биологичната активност на тези

съединения се касае също и до техните фармацевтично приемливи соли. Следващата таблица I показва съединенията, илюстриращи настоящото изобретение.

5

ТАБЛИЦА I

| Съединение № | Идентификационен код | R ₁ | R ₂ | M | Y | X | Z |
|--------------|-----------------------|----------------|------------------------------------|-------|---------------------|--|---|
| 1 | RA | H | (C ₉ -C ₁₂) | α-DMP | CH ₂ OH | OH | H |
| 2 | MA-A-1/B ₀ | H | iC ₁₀ | α-DMP | COOCH ₃ | NH(CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂ | H |
| 3 | RA-A-1/B ₀ | H | iC ₁₀ | α-DMP | CH ₂ OH | NH(CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂ | H |
| 4 | MA-A-2/B ₀ | H | iC ₁₀ | α-DMP | COOCH ₃ | NH-(CH ₂) ₃ -[NH(CH ₂) ₃] ₂ -NH ₂ | H |
| 5 | MA-A-3/B ₀ | H | iC ₁₀ | α-DMP | COOCH ₃ | NH(CH ₂) ₃ -N[(CH ₂) ₃ NH ₂] ₂ | H |
| 6 | MA-A-1 | H | (C ₉ -C ₁₂) | α-DMP | COOCH ₃ | NH(CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂ | H |
| 7 | PyMA-A-1 | H | (C ₉ -C ₁₂) | α-DMP | COOCH ₃ | NH(CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂ | H |
| 8 | RA-A-1 | H | (C ₉ -C ₁₂) | α-DMP | CH ₂ OH | NH(CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂ | H |
| 9 | RA-A-2 | H | (C ₉ -C ₁₂) | α-DMP | CH ₂ OH | NH(CH ₂) ₃ -[NH(CH ₂) ₃] ₂ -NH ₂ | H |
| 10 | RA-A-3 | H | (C ₉ -C ₁₂) | α-DMP | CH ₂ OH | NH-(CH ₂) ₃ -N[(CH ₂) ₃ NH ₂] ₂ | H |
| 11 | A-A-1 | H | (C ₉ -C ₁₂) | α-DMP | COOH | NH(CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂ | H |
| 12 | PyA-A-1 | H | (C ₉ -C ₁₂) | α-DMP | COO [⊖] | NH(CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂ | H |
| 13 | A-A-3/B ₀ | H | iC ₁₀ | α-DMP | COOH | NH(CH ₂) ₃ -N[(CH ₂) ₃ NH ₂] ₂ | H |
| 14 | ABA-A-1 | H | (C ₉ -C ₁₂) | α-DMP | CONHCH ₃ | NH(CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂ | H |

| Съединение № | Идентификационен код | R ₁ | R ₂ | H | Y | X | Z |
|--------------|-----------------------|----------------|------------------------------------|-------|---|--|---|
| 15 | ADA-A-1 | H | (C ₉ -C ₁₂) | α-DMP | CONHCH ₂ (CH ₂) ₂ | NH(CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂ | H |
| 16 | PyRA-A-1 | H | (C ₉ -C ₁₂) | α-DMP | CH ₂ OH | NH(CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂ | P [⊖] (NC ₄ H ₈) ₃ CH ₃ COO [⊖] |
| 17 | A-A-2 | H | (C ₉ -C ₁₂) | α-DMP | COOH | NH-(CH ₂) ₃ -[NH(CH ₂) ₃] ₂ -NH ₂ | H |
| 18 | AA-A-1 | H | (C ₉ -C ₁₂) | α-DMP | CONH ₂ | NH(CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂ | H |
| 19 | ACA-A-1 | H | (C ₉ -C ₁₂) | α-DMP | CON(CH ₃) ₂ | NH(CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂ | H |
| 20 | AA-A-2/B ₀ | H | iC ₁₀ | α-DMP | CONH ₂ | NH-(CH ₂) ₃ -[NH(CH ₂) ₃] ₂ -NH ₂ | H |
| 21 | AA-A-3 | H | (C ₉ -C ₁₂) | α-DMP | CONH ₂ | NH(CH ₂) ₃ -N[(CH ₂) ₃ NH ₂] ₂ | H |
| 22 | PyA-A-3 | H | (C ₉ -C ₁₂) | α-DMP | COOH | NH(CH ₂) ₃ -N[(CH ₂) ₃ NH ₂] ₂ | P [⊖] (NC ₄ H ₈) ₃ Cl [⊖] |
| 23 | PyAA-A-1 | H | (C ₉ -C ₁₂) | α-DMP | CONH ₂ | NH(CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂ | P [⊖] (NC ₄ H ₈) ₃ Cl [⊖] |
| 24 | RA-A-4 | H | (C ₉ -C ₁₂) | α-DMP | CH ₂ OH |  | H |
| 25 | MA-A-4 | H | (C ₉ -C ₁₂) | α-DMP | COOCH ₃ |  | H |
| 26 | DM-RA-A-1 | H | (C ₉ -C ₁₂) | H | CH ₂ OH | NH(CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂ | H |

| Съедине- ние № | Идентифика- ционен код | R ₁ | R ₂ | H | Y | X | Z |
|-------------------|---------------------------|----------------|------------------------------------|-------|--------------------|--|---|
| 27 | DM-RA-A-1/B ₀ | H | iC ₁₀ | H | CH ₂ OH | NH(CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂ | H |
| 28 | DM-MA-A-1 | H | (C ₉ -C ₁₂) | H | COOCH ₃ | NH(CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂ | H |
| 29 | RA-A-1/B | H | iC ₁₀ /nC ₁₁ | α-DMP | CH ₂ OH | NH(CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂ | H |
| 30 | MA-A-1/B | H | iC ₁₀ /nC ₁₁ | α-DMP | COOCH ₃ | NH(CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂ | H |
| 31 | RA-A-1/A | H | nC ₁₀ | α-DMP | CH ₂ OH | NH(CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂ | H |
| 32 | MA-A-1/A | H | nC ₁₀ | α-DMP | COOCH ₃ | NH(CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂ | H |
| 33 | RA-A-1/B ₁ | H | nC ₁₁ | α-DMP | CH ₂ OH | NH(CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂ | H |
| 34 | MA-A-1/B ₁ | H | nC ₁₁ | α-DMP | COOCH ₃ | NH(CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂ | H |

(NC₄B₆)₃ = (пирролидино)₃
 α-DMP = α-D-напопиранозил
 iC₁₀ = 9-метилдецил (съответства на фактор B₀ на A 40926)
 nC₁₀ = п-децил (съответства на фактор A на A 40926)
 nC₁₁ = п-ундецил (съответства на фактор B₁ на A 40926)
 iC₁₀/nC₁₁ = 9-метилдецил и п-ундецил (съответства на фактор B на A 40926)
 (C₉-C₁₂) = C₉-C₁₂ алкил (съответства на всички фактори на A 40926 комплекс)

Производните на антибиотик А 40926 от настоящото изобретение имат активност главно срещу грамположителни бактерии. Поспециално тези съединения са показали неочаквана активност срещу гликопептидни резистентни Enterococci и Staphylococci.

Антимикробната активност, изразена като минимална инхибиторна концентрация / MIC/ на производните на антибиотик А 40926 с формула I, срещу избрани щамове на грамположителни бактерии, се определя чрез сравняване с тейкопланин и с антибиотичен

комплекс А 40926. Използва се метод за разреждане на микробна среда в бульон от среда на Muller-Hinton в присъствие на 0,01 % (тегло/обем) от говежди серумен албумин (фракция V Sigma). Крайното инокулиране настъпва при около 10^5 cfu/ml и минималната инхибиторна концентрация /MIC/ се отчита при най-ниската концентрация (mcg/ml) която не показва видим растеж след 18-24 часа инкубиране при 37°C.

Следващата таблица II показва антимикробния спектър на серия от избрани съединения от изобретението.

ТАБЛИЦА II
MIC (mcg/ml)

| МИКРООРГАНИЗЪМ L No. (1) ШАМ | ТЕЙКО- ПЛАНИН* | А 40926 комплекс* | Съединение 1 РА | Съединение 2 МА-А-1/В ₀ | Съединение 3 РА-А-1/В ₀ | Съединение 4 МА-А-2/В ₀ |
|---------------------------------|-------------------|----------------------|--------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| 165 <u>Staph. aureus</u> | 0.25 | 0.13 | 0.13 | 0.13 | 0.13 | 0.25 |
| 561 <u>Staph. aureus</u> | 8 | 8 | 4 | 1 | 0.13 | 0.5 |
| 147 <u>Staph. epidermidis</u> | 4 | 4 | 4 | 0.25 | 0.13 | 0.13 |
| 533 <u>Staph. epidermidis</u> | 8 | 8 | 4 | 0.13 | 0.06 | 0.25 |
| 602 <u>Staph. haemolyticus</u> | 32 | 16 | 8 | 0.5 | 0.13 | 0.25 |
| 49 <u>Strep. pyogenes</u> | 0.13 | 0.13 | 0.13 | 0.13 | 0.06 | 0.13 |
| 44 <u>Strep. pneumoniae</u> | 0.06 | 0.06 | 0.03 | 0.03 | 0.01 | 0.13 |
| 149 <u>Enteroc. faecalis</u> | 0.13 | 0.13 | 0.13 | 0.13 | 0.06 | 0.25 |
| 562 <u>Enteroc. faecalis</u> | >128 | 64 | 16 | 8 | 8 | 16 |
| 997 <u>Neisseria gonorrh.</u> | 32 | 0.13 | 2 | 8 | 16 | 32 |
| 47 <u>Esch. coli</u> | >128 | >128 | 128 | >128 | >128 | >128 |
| 4 <u>Pseudomonas aerug.</u> | >128 | 128 | >128 | 128 | 128 | 64 |
| 79 <u>Proteus vulgaris</u> | >128 | 64 | >128 | 32 | 128 | 64 |

(1) Кодов номерна щамове от колекцията

* Съединение за сравнение

ТАБЛИЦА II (продължение)

MIC (mcg/ml)

| МИКРООРГАНИЗЪМ L No. (1) ШАН | Съединение 5 MA-A-3/B0 | Съединение 6 MA-A-1 | Съединение 7 PyMA-A-1 | Съединение 8 RA-A-1 | Съединение 9 RA-A-2 | Съединение 10 RA-A-3 |
|---------------------------------|---------------------------|------------------------|--------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|
| 165 <u>Staph. aureus</u> | 0.06 | 0.13 | 1 | 0.13 | 0.06 | 0.06 |
| 561 <u>Staph. aureus</u> | 0.5 | 1 | 16 | 0.13 | 0.25 | 0.13 |
| 147 <u>Staph. epidermidis</u> | 0.13 | 0.25 | 8 | 0.13 | 0.13 | 0.06 |
| 533 <u>Staph. epidermidis</u> | 0.13 | 0.13 | 4 | 0.06 | 0.25 | 0.06 |
| 602 <u>Staph. haemolyticus</u> | 0.06 | 0.5 | 8 | 0.13 | 0.13 | 0.13 |
| 49 <u>Strep. pyogenes</u> | 0.03 | 0.13 | 0.13 | 0.06 | 0.06 | 0.03 |
| 44 <u>Strep. pneumoniae</u> | 0.03 | 0.03 | 0.06 | 0.01 | 0.06 | 0.01 |
| 149 <u>Entero. faecalis</u> | 0.13 | 0.13 | 0.5 | 0.13 | 0.13 | 0.13 |
| 562 <u>Entero. faecalis</u> | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| 997 <u>Neisseria gonorrh.</u> | 32 | 8 | >128 | 16 | 64 | 32 |
| 47 <u>Esch. coli</u> | >128 | >128 | >128 | >128 | >128 | >128 |
| 4 <u>Pseudomonas aerug.</u> | 64 | 128 | >128 | 128 | 64 | 16 |
| 79 <u>Proteus vulgaris</u> | 64 | 32 | >128 | >128 | >128 | >128 |

(1) Кодов номер на щановете от колекцията

| Микроорганизъм | Съединение 11 А-А-1 | Съединение 12 РуА-А-1 | Съединение 13 А-А-3/В0 | Съединение 14 АВА-А-1 | Съединение 15 АДА-А-1 |
|--------------------------------|------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|
| L No. (1) ШАМ | | | | | |
| 165 <u>Staph. aureus</u> | 0.13 | 0.25 | 0.06 | 0.13 | 0.13 |
| 561 <u>Staph. aureus</u> | 0.5 | 4 | 0.13 | 16 | 1 |
| 147 <u>Staph. epidermidis</u> | 0.25 | 2 | 0.13 | 8 | 0.13 |
| 533 <u>Staph. epidermidis</u> | 0.13 | 1 | 0.06 | 32 | 0.13 |
| 602 <u>Staph. haemolyticus</u> | 0.13 | 2 | 0.06 | 16 | 0.25 |
| 49 <u>Strep. pyogenes</u> | 0.03 | 0.06 | 0.03 | 0.06 | 0.06 |
| 44 <u>Strep. pneumoniae</u> | 0.06 | 0.06 | 0.03 | 0.01 | 0.06 |
| 149 <u>Enter. faecalis</u> | 0.13 | 0.5 | 0.13 | 0.13 | 0.06 |
| 562 <u>Enter. faecalis</u> | 16 | 4 | 16 | 8 | 8 |
| 997 <u>Neisseria gonorrh.</u> | 1 | 128 | 8 | >128 | 16 |
| 47 <u>Esch. coli</u> | >128 | >128 | >128 | >128 | >128 |
| 4 <u>Pseudomonas aerug.</u> | >128 | >128 | >128 | >128 | >128 |
| 79 <u>Proteus vulgaris</u> | >128 | >128 | >128 | >128 | >128 |

(1) Кодов номер на дамовете от колекцията

| Микроорганизъм | Съединение 16 PuRA-A-1 | Съединение 24 RA-A-4 | Съединение 25 MA-A-4 |
|--------------------------------|---------------------------|-------------------------|-------------------------|
| L No. (1) ЦАМ | | | |
| 165 <u>Staph. aureus</u> | 1 | 0.06 | 0.13 |
| 561 <u>Staph. aureus</u> | 16 | 2 | 4 |
| 147 <u>Staph. epidermidis</u> | 4 | 0.25 | 1 |
| 533 <u>Staph. epidermidis</u> | 4 | 0.13 | 2 |
| 602 <u>Staph. haemolyticus</u> | 8 | 0.5 | 2 |
| 49 <u>Strep. pyogenes</u> | 0.06 | 0.03 | 0.06 |
| 44 <u>Strep. pneumoniae</u> | 0.06 | 0.03 | 0.06 |
| 149 <u>Enteroc. faecalis</u> | 1 | 0.06 | 0.13 |
| 562 <u>Enteroc. faecalis</u> | 8 | 8 | 8 |
| 997 <u>Neisseria gonorrh.</u> | >128 | 16 | 16 |
| 47 <u>Esch. coli</u> | >128 | >128 | >128 |
| 4 <u>Pseudomonas aerug.</u> | >128 | >128 | >128 |
| 79 <u>Proteus vulgaris</u> | >128 | >128 | >128 |

(1) Кодов номер на щановете от колекцията

Следващата таблица III представя данни за in vitro активността на някои съединения от изобретението в сравнение с тейкопланин и

ванкомицин по отношение на in vitro активността срещу ентерококови щамове, които са силно резистентни на гликопептиди в общата терапия.

5

ТАБЛИЦА III
МИС ($\mu\text{g/ml}$)

| МИКРООРГАНИЗЪМ ЩАМ (1) | СЪЕДИНЕНИЕ 6 МА-А-1 | СЪЕДИНЕНИЕ 8 РА-А-1 | ТЕЙКОПЛАНИН | ВАНКОМИЦИН |
|--|------------------------|------------------------|-------------|------------|
| <u>Enterococcus</u> <u>faecalis</u> | | | | |
| L 560 | 32 | 32 | >128 | >128 |
| L 562 | 8 | 8 | >128 | >128 |
| L 563 | 16 | 16 | >128 | >128 |
| <u>Enterococcus</u> <u>faecium</u> | | | | |
| L 564 | 8 | 8 | >128 | >128 |
| L 565 | 8 | 8 | >128 | >128 |
| L 569 | 16 | 16 | >128 | >128 |
| L 1650 | 64 | 32 | >128 | >128 |
| L 1652 | 8 | 8 | >128 | >128 |
| L 1666 | 32 | 32 | >128 | >128 |
| L 1680 | 8 | 8 | >128 | >128 |
| L 1681 | 8 | 8 | >128 | >128 |
| L 1683 | 4 | 8 | >128 | >128 |
| L 1686 | 4 | 4 | >128 | >128 |

(1): кодови номера

Следващата таблица VI показва резултатите от изпитването на някои съединения от изобретението при експериментална стрептококова септисемия при мишки.

Изследванията са проведени по метода, описан от V. Arioli et al., Journal of Antibiotics, 29, 511, (1976):

5

| Съединение № | Инфектиращ организъм <i>Strep. pyogenes</i> C 203 дозирание (ED ₅₀) подкожно (мг/кг) |
|------------------------------------|--|
| Тейкопланин | 0.16 |
| A 40926 комплекс | 0.35 |
| Съединение 1 RA | 0.08 |
| Съединение 2 MA-A-1/B ₆ | 0.03 |
| Съединение 3 RA-A-A/B ₀ | 0.03 |
| Съединение 4 MA-A-2/B ₀ | 0.13 |
| Съединение 5 MA-A-3/B ₀ | 0.04 |
| Съединение 6 MA-A-1 | 0.03 |
| Съединение 7 PyMA-A-1 | 0.11 |
| Съединение 8 RA-A-1 | 0.03 |
| Съединение 11 A-A-1 | 0.03 |
| Съединение 12 PyA-A-1 | 0.04 |
| Съединение 13 A-A-3/B ₀ | 0.05 |
| Съединение 15 ADA-A-1 | 0.05 |
| Съединение 16 PyRA-A-1 | 0.06 |

Данните, представени по-горе, показват, че макар прекурсорът А 40926 да е общо по-силно активен срещу *Neisseria gonorrhoeae*, изпитваните съединения имат по-добра активност срещу клинично изолирани *Staphylococci* и *Enterococci*. По-специално те са:

а) значително по-активни *in vitro* отколкото тейкопланин и А 40926 срещу гликопептидни междинни или резистентни стафилококи, по-специално коагулазно-негативния и метицилин-резистентни стафилококи;

б) активни *in vitro* срещу гликопептидни високо резистентни ентерококи, които са силно резистентни на тейкопланин и ванкомицин и малко резистентни на А 40926 (МИК ≥ 64 mcg/ml);

в) по-ефективни *in vitro* отколкото тейкопланин и А 40926 при стрептококова септицемия при мишки.

Предвид описаната антимикуробна активност съединенията от изобретението могат успешно да се използват като активни ингредиенты за антимикуробни препарати, прилагани в хуманната и ветеринарната медицина за профилактика и лечение на инфекциозни заболявания, причинени от патогенни бактерии, които са чувствителни на посочените активни вещества, и по-специално за лечение на инфекции, причинени от *Enterococci*, *Streptococci* и *Staphylococci* щамове, които показват ниска чувствителност към гликопептидни антибиотици.

Съединенията от изобретението могат да се прилагат перорално, локално или парентерално, като парентералният начин е за предпочитане.

В зависимост от начина на прилагане съединенията могат да се приготвят в различни дозирани форми. Препаратите за перорално приложение могат да бъдат под формата на капсули, таблетки, течни разтвори или суспензии. Както е известно от нивото на техниката, капсулите и таблетите могат да съдържат в добавка към активния ингредиент традиционни ексципиенти като разредители-лактоза, калциев фосфат, сорбитол и други, смазващи вещества като магнезиев стеарат, талк, полиетиленгликол, сорбитол, трагакант, акация, ароматизиращи и приемливи разпадащи и омокрящи агенти. Течните препарати обикновено под формата на водни

или маслени разтвори или суспензии могат да съдържат подходящи добавки като суспендиращи агенти.

За локална употреба съединенията от изобретението могат да бъдат приготвени в подходящи форми за абсорбиране през мукозните мембрани на носа и гърлото или бронхиалните тъкани и могат да бъдат под формата на течен спрей или инхалационни разтвори, филмтаблети или разтвор за гърло.

За лечение на очи и уши препаратите могат да бъдат в течна или полутечна форма. Локалните препарати могат да бъдат формулирани в хидрофобни или хидрофилни основи като унгвенти, кремове, лосиони, кашии или прахове.

За ректално използване съединенията от изобретението се прилагат под формата на супозитории, смесими с традиционни носители като кокосово масло, восък, спермацети или полиетиленгликоли и техни производни.

Инжекционните състави могат да бъдат под форма на суспензии или емулсии в мастен или воден носител и могат да съдържат формулиращи агенти като суспендиращи, стабилизатори и/или диспергиращи агенти.

Съответно активният ингредиент може да бъде под формата на прах за възстановяване в момента на прилагане заедно с подходящ носител като стерилна вода.

Количеството на използваното активно вещество зависи от различни фактори като големината и условията, при които се лекува субектът, начинът и честотата на прилагане и включените допълнителни агенти.

Съединенията от изобретението обикновено са ефективни в дозировки от 1 до 40 мг активно вещество на кг телесно тегло. В зависимост от характеристиките на специфичното съединение, инфекцията и пациентите, ефективната доза може да бъде прилагана еднократно или 2 до 4 пъти дневно. Предпочитани препарати са тези, които са приготвени като дозирани форми, съдържащи около 30 до 500 мг за единична доза.

Пример 1. Получаване на изходното съединение (МА), съединение с формула II, в която U' е $-COOCH_3$, X' е $-OH$, R_1' е $-H$, R_2' е (C_9-C_{12}) алкил, съответстващо на факторите на комплекс А 40926, M' е α -Д-манопиранозил и Z е $-H$.

Антибиотичен комплекс А 40926, 140 мг, 0,0866 ммол, получен съгласно патент EP-A-177882, се разтваря в метанол, 30 мл и се нагласява на рН 2 с концентрирана сярна киселина. Сместа се разбърква при стайна температура 26 часа. Чрез прибавяне на 0,15 мл триетиламин (ТЕА) рН се нагласява до 6 и се появява утайка. След прибавяне на диетилов етер утайката се отделя, промива се отново с диетилов етер и се суши. Добив 150 мг, 99 %.

Пример 2. Получаване на съединение 1 (РА), съединение с формула (I), в която Y е -CH₂OH, X е -OH, R₁ е -H, R₂ е (C₉-C₁₂) алкил, съответстващо на факторите на комплекс А 40926, M е α-D-манопиранозил и Z е -H.

Стадий а. Получаване на N¹⁵-(t-BOC)-MA

Към разбъркван разтвор на 1,8 г съединение, получено съгласно пример 1 (МА), и 1 г натриев бикарбонат в 50 мл разтвор на диоксан/вода 1:1, се прибавя разтвор от 0,25 г ди-трет-бутилов дикарбонат в 5 мл диоксан на капки за 15 минути. След 1 час при стайна температура реакционната смес се нагласява с 1N HCl до рН 4. След това се прибавят 150 мл вода и получената смес се екстрахира с n-бутанол (2 x 100 мл). Органичният слой се разделя, промива се със 100 мл вода и после се концентрира до намален обем (около 25 мл) при 40°C под вакуум. Получената твърда утайка чрез прибавяне на 100 мл диетилов етер се събира, суши се под вакуум и при стайна температура цяла нощ дава 1,6 г цитираното съединение N¹⁵-(t-BOC)-MA, което е достатъчно чисто и може да се използва в следващия стадий.

Стадий б. Получаване на N¹⁵-(t-BOC)-RA

Към разбърквана суспензия от 0,9 г от съединението, получено съгласно предишния стадий, в 50 мл вода, се прибавят 30 мл смес 1:1 n-бутанол/диетилов етер и после 0,9 г натриев борохидрид. Редуциращият агент се прибавя на порции за 30 минути при стайна температура, после реакционната смес се разбърква при стайна температура за 1 час. След това се охлажда при 5°C, прибавя се 1,5 мл ледена оцетна киселина и след това - 50 мл вода. Получената смес се екстрахира със 100 мл n-бутанол и органичният слой се обработва, както е описано по-горе, до получаване на 0,8 г от цитираното съединение N¹⁵-(t-BOC)-RA,

което е достатъчно чисто и може да се използва в крайния стадий с.

Стадий с. Разтвор от 0,5 г съединение N¹⁵-(t-BOC)-RA, получено съгласно стадий б, в 5 мл суха трифлуороцетна киселина (ТРА) се разбърква при стайна температура за 1 минута /или алтернативно при 0-5°C от 20 до 30 минути/ и после се излива в 10 мл смес от метанол/диетилов етер 1:4 при 0-5°C. Цитираното съединение се събира чрез филтриране и след промиване с диетилов етер и сушене при стайна температура под вакуум цяла нощ се получават 0,35 г продукт. Пречистени 0,15 г от съединение RA се получават чрез реверсивно фазова колонна хроматография върху силанизиран силикагел чрез събиране на всички фракции, съдържащи чистите отделни фактори, както е описано по-долу.

Пример 3. Получаване на съединение 2 (МА-А-1/V₀) и 6 (МА-А-1)

Съединение с формула I, в която Y е -COOCH₃, X е NH-(CH₂)-N(CH₃)₂, R₁ е -H, R₂ е 9-метилдецил (МА-А-1/V₀) или (C₉-C₁₂) алкил, съответстващо на факторите на А 40926 комплекса (МА-А-1), M е α-D-манопиранозил и Z е -H.

Метод А. Стадий а. Получаване на N¹⁵-(t-BOC)-МА-А-1.

Към разбъркван разтвор на 1,3 г N¹⁵-(t-BOC)-МА в 30 мл ДМСО, получен съгласно стадий а на пример 2, се прибавят 0,2 мл 3,3-диметиламино-1-пропиламин и 0,3 мл дифенилфосфороацидат /DPPA/. След разбъркване 4 часа при стайна температура друго количество от 0,15 мл DPPA се прибавя и разбъркването продължава още 20 часа при стайна температура. Чрез прибавяне на 170 мл диетилов етер се отделя твърда утайка, която дава 1,4 г от цитираното съединение N¹⁵-(t-BOC)-МА-А-1.

Стадий б. Полученият по-горе продукт се разтваря в 10 мл трифлуороцетна киселина. Полученият разтвор се разбърква за 20 минути при стайна температура и се прибавя 90 мл диетилов етер. Утаеното твърдо вещество се събира, суши се при стайна температура под вакуум цяла нощ и се получава 0,9 г суров продукт (МА-А-1), който се пречиства чрез реверсивно-фазова хроматография върху колона от силанизиран силикагел. Като се събират само фракциите, съдържащи желаните

чист индивидуален фактор, се получава 0,15 г чист МА-А-1/ V_0 .

Метод Б. Към разбъркван разтвор от 1,8 г около 1 ммол от съединението от пример 1, (МА), в 30 мл диметилформамид /ДМФА/ се прибавят 0,14 мл, около 1,15 ммол 3,3-диметиламино-1-пропиламин и 600 мг, около 1,2 мол РуВОР при стайна температура. След разбъркване 3 часа при 20-25°C се прибавя 150 мл диетилов етер. Твърдата утайка се събира, пречиства се чрез реверсивно-фазова колонна хроматография (чрез събиране на всички фракции, съдържащи чистите индивидуални фактори) и се получава 1,15 г съединение МА-А-1.

Пример 4. Получаване на съединение 7 (РуМА-А-1), съединение с формула I, в която Y е -COOCH₃, X е -NH-(CH₂)₃-N(CH₃)₂, R₁ е -H, R₂ е (C₉-C₁₂) алкил, съответстващо на факторите на комплекса А 40926, M е α-D-манопиранозил и Z е P*(NC₄N₈)₃CH₃COO⁻.

Към разбъркван разтвор от 1,8 г, около 2 ммол от съединението МА, получено както в пример 1, в 40 мл ДМФА, 2 мл, около 16 ммола 3,3-диметиламино-1-пропиламин и 3,12 г, около 6 ммол РуВОР се прибавя при стайна температура. След 30 минути реакционната смес се обработва, както е описано в пример 3, метод Б, и се получава 1,5 г от цитираното съединение РуМА-А-1.

Пример 5. Получаване на съединение 3 (РА-А-1/ V_0) и 8 (РА-А-1)

Съединение с формула I, в която Y е -CH₂OH, X е -NH-(CH₂)₃-N(CH₃)₂, R₁ е -H, R₂ е 9-метилдецил (РА-А-1/ V_0) или (C₉-C₁₂) алкил, съответстващо на факторите на А 40926 комплекс, M е α-D-манопиранозил и Z е -H.

Метод А. Стадий а. Получаване на N¹⁵-(t-BOC)-РА-А-1

Чрез реално осъществяване на процедурата, описана в пример 3, метод А, стадий а, от 2 г N¹⁵-(t-BOC)-РА, от пример 2, стадий б, се получава 1,7 г цитираното съединение N¹⁵-(t-BOC)-РА-А-1.

Стадий б. Като се следва процедурата, описана в пример 2, стадий в, от 1,7 г от горното съединение N¹⁵-(t-BOC)-РА-1 се получава 0,22 г чисто съединение РА-А-1.

Факторът РА-А-1 се получава по същия начин, както е описано по-горе, но чрез реверсивно-фазовото хроматографско пречистване се събират само тези фракции,

които съдържащ желания индивидуален фактор.

Метод Б. Към разбъркван разтвор на 50 г, около 27 ммола от съединението от пример 2 (РА), в 200 мл ДМФА, се прибавят 11 мл, около 90 ммола 3,3-диметиламино-1-пропиламин и 18 г, около 35 ммола РуВОР, при стайна температура. След разбъркване 15 минути се прибавя 1 л етил ацетат и утаеното около 63 г твърдо вещество се събира и пречиства чрез реверсивно-фазова колонна хроматография, чрез събиране на всички фракции, съдържащи чистите индивидуални фактори и се получават 25 г съединение РА-А-1.

Пример 6. Получаване на съединение 4 (МА-А-2/ V_0), съединение с формула I, в която Y е -COOCH₃, X е -NH-(CH₂)₃-[NH-(CH₂)₃]₂-NH₂, R₁ е -H, R₂ е 9-метилдецил, M е α-D-манопиранозил и Z е -H.

Стадий а. Получаване на N¹⁵-(t-BOC)-МА, цианометиллов естер

Разтвор на 2,5 г на съединението от пример 2, стадий а, (N¹⁵-(t-BOC)-МА), 0,25 мл ТЕА и 2,5 мл хлороацетонитрил в 10 мл диметилсулфоксид /ДМСО/ се разбърква при стайна температура 4 часа. След това се прибавя 90 мл ацетат и утаеното твърдо вещество се събира и се получава 2,8 г сурово съединение N¹⁵-(t-BOC)-МА цианометиллов естер.

Стадий б. Получаване на N¹⁵-(t-BOC)-МА-А-2

Полученият в предишния стадий суров цианометиллов естер се разтваря в 30 мл ДМСО. Полученият разтвор се смесва с 2,8 мл N,N-бис-(3-аминопропил)-1,3-пропандиамин и реакционната смес се разбърква при стайна температура 4 часа. След това се прибавя 200 мл етил ацетат и твърдата утайка се събира и се получава 3 г суров продукт от съединение N¹⁵-(t-BOC)-МА-А-2.

Стадий с. Гореполученото съединение като суров продукт се обработва с трифлуорооцетна киселина /ТФК/, както е описано в пример 3, метод А, стадий б, и след реверсивно-фазова колонна хроматография чрез комбиниране на фракциите, съдържащи желания чист индивидуален фактор, се получава 0,45 г чисто съединение МА-А-2/ V_0 .

Пример 7. Получаване на съединение 5 (МА-А-3/ V_0), съединение с формула I, в която

Y е $-\text{COOH}_3$, X е $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{N}[(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2]_2$, R_2 е 9-метилдецил, M е α -D-манопиранозил и Z е -H.

Стадий а. получаване на N',N''-ди(t-BOC)-трис(3-аминопропил)амин.

Защитеният N',N''-полиамин се получава по метод, описан в заявка РСТ 90/11300.

Стадий б. Кондензация на МА с N',N''-ди(t-BOC)-трис-(3-аминопропил)амин

Разтвор от 18 г, около 10 ммол от съединението МА, получено в пример 1, 14 г, около 36 ммола от защитения амин, 3 мл, около 22 мола ТЕА и 6 мл, около 28 ммола ДРРА в 150 мл ДМСО се разбърква при стайна температура за 2 часа и после се прибавя 500 мл етил ацетат. Получава се 22 г твърда утайка, която се използва в следващия стадий без пречистване.

Стадий в. Отделяне на t-BOC-защитните групи

Суровият продукт от стадий б се разтваря в 150 мл суха ТФК, преохладена при 0°C и полученият разтвор се разбърква при 0-5°C за 20 минути. После се прибавят 150 мл метанол и 300 мл диетилов етер. Отделя се твърда утайка, която се промива неколkokратно с диетилов етер и после се пречиства чрез реверсивно-фазова хроматография, като се събират само фракциите, съдържащи желания чист индивидуален фактор, и се получава 9 г съединение МА-А-3/V₀.

Пример 8. Получаване на съединение 9 (РА-А-2), съединение с формула I, в която Y е $-\text{CH}_2\text{OH}$, X е $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-[\text{NH}(\text{CH}_2)_3]_2-\text{NH}_2$, R_1 е -H, R_2 е (C₉-C₁₂) алкил, съответстващо на факторите на комплекс А 40926, M е α -D-манопиранозил и Z е -H.

Стадий а. Получаване на N¹⁵-(t-BOC)-РА, цианометил естер

Разтвор от 8 г, около 4 ммола от съединението от пример 2, стадий б, (N¹⁵-(t-BOC)-РА), 0,75 мл, около 5,5 ммола ТЕА и 8 мл хлороацетонитрил в 40 мл ДМСО се разбърква при стайна температура 5 часа. После се прибавя 200 мл етил ацетат и получената твърда утайка се отделя и се получава 8,2 г суров цианометил естер на цитираното съединение.

Стадий б и в. Кондензация с N',N''-бис-(3-аминопропил)-1,3-пропандиамин и ацидолиза на t-BOC-защитната група:

Суровият цианометил естер от стадий а се разтваря в 80 мл ДМСО и 9 г N',N''-бис-(3-аминопропил)-1,3-пропандиамин се прибавят. След разбъркване 20 часа при стайна температура се прибавят 320 мл етил ацетат. Получената твърда утайка се отделя и се разтваря отново в 70 мл ледена суха трифлуорооцетна киселина. Полученият разтвор се разбърква 10 минути при 0°C и се прибавя 230 мл леден диетилов естер. Получената утайка се отделя и отново се разтваря бързо в 200 мл вода. Разтворът се нагласява до рН 5,5 с 1N NaOH и се пречиства чрез реверсивно-фазова хроматография като се събират всички фракции, съдържащи чистите индивидуални фактори, и се получава 1,3 г чист продукт от съединението РА-А-2.

Пример 9. Получаване на съединение 10 (РА-А-3), съединение с формула I, в която Y е $-\text{CH}_2\text{OH}$, X е $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{N}[(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2]_2$, R_1 е H, R_2 е (C₉-C₁₂) алкил, съответстващо на факторите на комплекс А 40926, M е α -D-манопиранозил и Z е -H.

Към разбъркван разтвор от 9 г, около 5 ммола от съединението РА от пример 2 в 100 мл ДМСО, 7 г, около 18 ммола от N',N''-ди-(t-BOC)-трис-(3-аминопропил)амин от пример 7, стадий а, се прибавят 1,5 мл ТЕА и 3 мл ДРРА при 10°C. След разбъркване при 10°C за 1 час и при стайна температура за 4 часа се прибавя 400 мл етил ацетат. Твърдата утайка, около 12 г, се разтваря отново в 80 мл ледена ТФК и полученият разтвор се разбърква 10 минути при 0-5°C. След това сместа 1:1 от метанол/диетилов етер, около 300 мл се преохладява при -10°C. Получената твърда утайка се отделя и отново се разтваря бързо в 200 мл вода. Полученият разтвор се нагласява на рН 4 с 1N NaOH и се пречиства чрез реверсивно фазова хроматография като се събират всички фракции, съдържащи чистите индивидуални фактори, и се получава 1,8 г чисто съединение РА-А-3.

Пример 10. Получаване на съединение 11 (А-А-1), съединение с формула I, в която Y е $-\text{COOH}$, X е $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, R_1 е -H, R_2 е (C₉-C₁₂) алкил, съответстващо на факторите на комплекс А 40926, M е α -D-манопиранозил и Z е -H.

Към разбърквана суспензия от 5 г, около 2,5 ммола от съединение б (МА-А-1), получено, както е описано в пример 3, метод Б, в 60 мл

тетрахидрофуран /ТХФ/, 10 мл вода и 20 мл 1N NaOH се прибавят при стайна температура. След 30 минути полученият разтвор се нагласява на рН 7 с 1N HCl, прибавя се 150 мл н-бутан и сместа се концентрира до обем около 20 мл при 40°C под вакуум. След прибавяне на 200 мл диетилов етер се отделя 5,2 г твърда утайка, която се пречиства чрез реверсивно-фазова хроматография, като се събират всички фракции, съдържащи чистите индивидуални фактори, и се получава 2,1 г цитираното съединение А-А-1.

Пример 11. Получаване на съединение 12 (РуА-А-1), съединение с формула I, в която Y е -COO⁻, X е -NH-(CH₂)₃-N(CH₃)₂, R₁ е -H, R₂ е (C₉-C₁₂) алкил, съответстващо на факторите на А 40926 комплекса, М е α-D-манопиранозил и Z е P⁺(NC₄H₈)₃.

Съединение 12 (РуА-А-1) се получава от съединение 7 (РуМА-А-1) от пример 4 чрез обработване при същите условия, като описаните в пример 10 за получаване на съединение 11 (А-А-1) от съединение 6 (МА-А-1) с добив 35%.

Пример 12. Получаване на съединение 13 (А-А-3/В₀), съединение с формула I, в която Y е -COOH, X е -NH-(CH₂)₃-N[(CH₂)₃NH₂]₂, R₁ е -H, R₂ е 9-метилдецил, М е α-D-манопиранозил и Z е -H.

Съединение 13 (А-А-3/В₀) се получава от съединение 5 (МА-А-3/В₀) от пример 7 при същите условия, описани в пример 10, за получаването на съединение 11 (А-А-1) от съединение 6 (МА-А-1) с добив 41%.

Пример 13. Получаване на съединение 14 (АВА-1-1), съединение с формула I, в която Y е -CONHCH₃, X е -NH-(CH₂)₃-N(CH₃)₂, R₁ е -H, R₂ е (C₉-C₁₂) алкил, съответстващо на факторите на комплекс А 40926, М е α-D-манопиранозил и Z е -H.

Стадий а. Получаване на N¹⁵-(t-BOC)-А-А-1, 6^B-цианометил естер

Към разбъркван разтвор от 22 г, около 11 ммола от съединение 11 (А-А-1) от пример 10, и 3 г NaHCO₃ в 220 мл вода/диоксан смес 1:1 се прикапва разтвор от 5 г ди-трет-бутил-дикарбонат в 20 мл сух диоксан при стайна температура за 10 минути. След разбъркване 2 часа при стайна температура се прибавя 200 мл вода и полученият разтвор се нагласява на рН 3 с 1N HCl и се екстрахира с 300 мл н-бутанол. Органичният слой се разделя и

концентрира при 35°C под вакуум до около 45 мл обем. Чрез прибавяне на 250 мл диетилов етер се отделя около 20 г твърда утайка от суров N¹⁵-(t-BOC)-А-А-1 и се разтваря отново в 150 мл ДМСО. След прибавяне на 3 мл ТЕА и 20 мл хлороацетонитрил полученият разтвор се разбърква при стайна температура 5 часа и после се прибавя 500 мл етил ацетат. Твърдата утайка от около 18 г от цианометил естер е достатъчно чиста за използване в следващия стадий.

Стадий б. Реакция на горния 6^B-цианометил естер с метиламин и отделяне на t-BOC-защитната група.

Разтвор от 5 г от горния продукт в 75 мл 25% (тегло/обем) метиламин в етанол се разбърква 3 часа при стайна температура и се прибавя 300 мл диетилов етер. Получената 5,1 г твърда утайка се отделя и отново се разтваря в 35 мл трифлуорооцетна киселина при 0°C. Полученият разтвор се разбърква 15 минути при 0°C и после се прибавя 50 мл смес 1:1 метанол/диетилов етер, за да се утаи 4,5 г суров продукт, който се пречиства чрез реверсивно-фазова колонна хроматография, като се събират всички фракции, съдържащи чистите индивидуални фактори, и се получава 1,7 г съединение 14 (АВА-А-1).

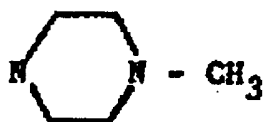
Пример 14. Получаване на съединение 15 (АДА-А-1), съединение с формула I, в която Y е -CONH-(CH₂)₃-N(CH₃)₂, X е -NH-(CH₂)₃-N(CH₃)₂, R₁ е -H, R₂ е (C₉-C₁₂) алкил, съответстващо на факторите на комплекса А 40926, М е α-D-манопиранозил и Z е -H.

Разтвор от 7 г, около 4 ммола антибиотичен комплекс А 40926, 2,5 мл, около 20 ммола 3,3-диметиламино-1-пропиламин и 5,2 г, около 10 ммола РуВОР в 70 мл ДМФА се разбъркват 1 час при стайна температура и после се прибавя 400 мл етил ацетат. Получената твърда утайка се отделя и се пречиства чрез реверсивно-фазова хроматография, като се събират всички фракции, съдържащи чистите индивидуални фактори, и се получава 2,1 г съединението 15 (АДА-А-1).

Пример 15. Получаване на съединение 16 (РуРА-А-1), съединение с формула I, в която Y и -CH₂OH, X е -NH-(CH₂)₃-N(CH₃)₂, R₁ е -H, R₂ е (C₉-C₁₂) алкил, съответстващо на факторите на А 40926 комплекс, М е α-D-манопиранозил и Z е P⁺(NC₄H₈)₃CH₃COO⁻.

Към разбъркван разтвор на 400 мг, около 2 ммолa съединение 7 (PyMA-A-1), получено, както е описано в пример 4, в 20 мл вода се прибавя при стайна температура 4 мл н-бутанол и 200 мг NaBH_4 . След разбъркване цяла нощ при стайна температура реакционната смес се нагласява до рН 4,5 с ледена оцетна киселина и се екстрахира с 50 мл н-бутанол. Органичният слой се отделя и разтворителят се изпарява при 45°C под вакуум. Твърдият остатък се пречиства с реверсивно-фазова хроматография, като се събират всички фракции, съдържащи чистите индивидуални фактори, и се получава 175 мг чисто съединение 16 (PyRA-A-1).

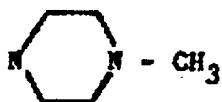
Пример 16. Получаване на съединение 25 (MA-A-4), съединение с формула I, в която Y е $-\text{COOCH}_3$, X е с формула



където R_1 е $-\text{H}$, R_2 е $(\text{C}_9-\text{C}_{12})$ алкил, съответно на факторите на комплекс А 40926, M е α -D-манопиранозил и Z е $-\text{H}$.

Към разбъркван разтвор от 5 г съединението от пример 1 (MA) в 60 мл смес 5:1 от ДМФА/ДМСО, се прибавят 0,3 мл N-метилпиперазин и 1,7 г PyBOP при стайна температура. След 1 час реакция се прибавя 140 мл ацетат и твърдата утайка се събира и пречиства чрез реверсивно-фазова колонна хроматография, като се събират всички фракции, съдържащи чистите индивидуални компоненти, и се получава 1,9 г съединение MA-A-4.

Пример 17. Получаване на съединение 24 (RA-A-4), съединение с формула I, в която Y е $-\text{CH}_2\text{OH}$, X е



R_1 е $-\text{H}$, R_2 е $(\text{C}_9-\text{C}_{12})$ алкил, съответстващ на факторите на комплекса А 40926, M е α -D-манопиранозил и Z е $-\text{H}$.

Чрез осъществяване на същата процедура, описана в пример 16, при същите реакционни условия от 5 г RA се получава 2,7 г чисто съединение RA-A-4.

Реверсивно-фазова колонна хроматография

Чисти проби от посочените съединения са получени чрез реверсивно-фазова колонна хроматография върху силанизиран силикагел (0,063-0,2 мм; Мерк). За целта суровият продукт, например 0,5 г, се разтваря в минимално количество смес 1:1 ацетонитрил/вода, разтворът се нагласява до рН 7 с 1N NaOH и се разрежда с вода, докато се образува мътен разтвор. След това се прибавя няколко капки ацетонитрил при силно разбъркване. Веднага щом се получи бистър разтвор, се зарежда върху колоната от силанизиран силикагел 100 г във вода. Елуирането се осъществява според линейния градиент от 10% до 60% ацетонитрил в 0,1N оцетна киселина за 10 часа при степен на изтичане около 250 мл/час, докато се съберат 20 мл от фракции, които се контролират чрез HPLC. Избират се тези фракции, които съдържат чисти съединения с формула I, и когато трябва да се получи комплексно съединение, в което R_2 е $(\text{C}_9-\text{C}_{12})$ алкил, съответстващо на факторите на комплекса А 40926, всички фракции, съдържащи чисти фактори, се събират и разтворителите се изпаряват при 40°C под вакуум в присъствието на н-бутанол, за да се избегне образуване на пена.

Когато в процеса на получаването на съединение с формула I е използван комплекс на антибиотик А 40926 като прекурсор и се иска получаването на индивидуален фактор на amidното съединение с формула I, в което R_2 отговаря на едно от значенията, които характеризират индивидуалните фактори на комплекса А 40926, например $R_2 = 9$ -метилдецил, само контролираните чрез HPLC фракции, които съдържат желания чист фактор, се събират и се обработват, както е описано по-горе.

Идентичността и структурата на всеки единичен фактор на съединенията от изобретението се определят чрез HPLC анализ на всеки реакционен продукт. В съответствие с това предварителното идентифициране на желания фактор се получава чрез сравняване на HPLC отпечатъка на комплекса А 40926 с този на суровия реакционен продукт /виж например описаните мостри от L.F.Zerilli et al, Rapid Communication in Mass Spectrometry, Vol. 6, 109, 1992, в тази литература фактор B₀ на комплекса А 40926 е рефериран като фактор B/.

Анализите HPLC се извършват върху колона Hibar (125 x 4 мм; Мерк), предварително напълнена с 5 μм Li-Chrospher RP-8, като се използва Varian Model 5500 течен хроматограф, снабден с променлив UV-детектор. Хроматограмите са записани при 254 нм. Елуиранията се провеждат върху линеен степенен градиент от 20% до 60% ацетонитрил в 0,2% воден амониев формиат за 30 минути със скорост на обтичане 1,5 мл/минута.

Тъй като всички комплексни съединения от изобретението имат типичен HPLC отпечатък, подобен на този, който е характерен за съответния прекурсор на комплекса на А 40926, индивидуалните фактори на съединението от изобретението, съответстващ на този на прекурсорния А 40926 комплекс, може лесно да бъде идентифициран чрез сравняване с двата HPLC образци. Елуираните фракции на реверсивно-фазовите хроматограми, които съдържат споменатите чисти фактори, могат да бъдат изолирани и обработени, както е описано по-горе. За последващото потвърждаване на идентичността на (C₉-C₁₂)-алкиловите вериги опитен образец от всяка фракция може да бъде изпарен, както е описано по-горе, за да се получи мостра от продукт, който може да бъде изследван чрез газова хроматография/маспектрометрия (ГХ/МС) съгласно метода, описан в цитираната по-горе литература.

Следващата таблица V представя резултатите от времето на задържане t_R на чистия фактор на всяко съединение с формула I, съгласно изобретението, където R₂ е 9-метилдецил (например това, което съответства на фактор В₀ на комплекса А 40926), който е взет за сравнение в процедурата на реверсивно-фазовата хроматография.

Таблицата показва също и времето t_R на фактор В₀ на прекурсорния комплекс А 40926 и на съответния естерен изходен материал (МА), записани при същите условия, както е посочено по-горе.

Таблица 5 45

Анализ HPLC

| Съединение t _R | Минути |
|---------------------------|--------|
| Прекурсор А 40926 | 9,7 |
| Изходен материал (МА) | 11,3 |
| Съединение 1 | 10,2 |

| | |
|---------------|------|
| Съединение 2 | 13,7 |
| Съединение 3 | 15,3 |
| Съединение 4 | 15,5 |
| Съединение 5 | 15,3 |
| Съединение 6 | 13,7 |
| Съединение 7 | 20,5 |
| Съединение 8 | 15,3 |
| Съединение 9 | 12,9 |
| Съединение 10 | 14,8 |
| Съединение 11 | 12,1 |
| Съединение 12 | 17,4 |
| Съединение 13 | 12,2 |
| Съединение 14 | 14,7 |
| Съединение 15 | 16,4 |
| Съединение 16 | 19,2 |
| Съединение 24 | 13,4 |
| Съединение 25 | 14,8 |

¹H и ³¹P - NMA спектри

¹H-NMR спектрите при 500 MHz са записани при температура около 20°C до 30°C върху спектрометър Bruker AM 500 в ДМСО-D₆ с тетраметилсилан /TMC/ като вътрешен стандарт (делта = 0,00 ppm). Таблица VI показва най-важните химически отмествания (делта ppm) на някои избрани съединения.

Таблица 6

| | |
|--|---|
| Съединение 1 (РА) | 0,85, 1,13, 1,42, 1,98 (ацилна верига); 3,72 (CH ₂ OH) 4,05-6,22 (пептидни СН); 6,43-8,52 (ароматни протони и пептидни NH's). |
| Съединение 2 (МА-А-1/В ₀): | 0,83, 1,14, 1,38, 1,98 (ацилна верига), 1,83 (CH ₂ -странична верига), 2,73 (N(CH ₃) ₂); 4,11-6,10 (пептидни СН's); 6,48-9,50 (ароматни протони и пептидни NH's) |
| Съединение 3 (РА-А-1/В ₀): | 0,84, 1,14, 1,38, 1,92 (ацилна верига); 1,72, 2,75 (CH ₂ -странична верига); 2,53 (N(CH ₃) ₂); 3,69 (CH ₂ OH) |

| | | | | |
|---------------|--|----|---------------|--|
| | 4,09-6,11 (пептидни CH's); 6,41-9,18 (ароматни протони и пептидни NH's). | | Съединение 11 | 0,84, 1,13, 1,39, 2,00 (ацилни вериги); (А-А-1): 1,74-2,79 (алкила- мино вериги); 2,37 (NH-CH ₃); 3,10-3,80 (захари); 4,10-6,10 (пептидни CH); 6,39-8,50 (ароматни протони и пептидни NH). |
| Съединение 4 | 0,84, 1,15, 1,39, 1,98 (ацилна верига); (МА-D-2/В ₀): 1,96, 2,86 (CH ₂ -странична верига); 4,08-6,15 (пептидни CH); 6,42-9,61 (ароматни протони и NH's). | 5 | Съединение 12 | 0,84, 1,13, 1,42, 2,02 (ацилни вериги); (РуА-А-1): 1,87, 2,73, 3,00 (диметилпропиламид); 2,48 (NH-CH ₃); 1,71, 3,30 (пиролонин); 3,10-3,80 (захари); 4,10-6,25 (пептидни CH); 6,38-8,55 (ароматни протони и пептидни NH). |
| Съединение 5 | 0,85, 1,13, 1,42, 2,02 (ацилна верига); (МА-А-3/В ₀): 1,73, 2,82 (алкиламино вериги); 2,42 (-N-CH ₃); 3,63 (COOCH ₃); 3,10-3,80 (захари); 4,10-6,10 (пептидни CH's); 6,41-8,52 (ароматни протони и пептидни NH's). | 15 | Съединение 13 | 0,84, 1,13, 1,42, 2,02 (ацилни вериги); (А-А-3/В ₀): 2,33 (NH-CH ₃); 1,71, 2,80 (алкиламино вериги); 3,10-3,80 (захари); 4,10- 6,10 (пептидни CH); 6,37- 8,50 (ароматни протони и пептидни NH). |
| Съединение 7 | 0,84, 1,13, 1,42, 2,01 (ацилни вериги); (РуМА-1-1): 1,83, 2,16, (диметилпропил- амид); 2,32 (NH-CH ₃); 1,70, 3,23 (пиролонин); 3,10-3,80 (захари); 4,10-6,20 (пептидни CH); 6,38-8,40 (ароматни про- тони и пептидни NH). | 25 | Съединение 14 | 0,84, 1,13, 1,42, 1,96 (ацилни вериги); (АВА-А-1): 2,35 [(CH-NH)-CH ₃]; 1,78, 2,70 (алкиламино вериги); 3,10-3,80 (захари); 4,10-6,10 (пептидни CH); 6,37-8,50 (ароматни протони и пептидни NH). |
| Съединение 9 | 0,84, 1,13, 1,39, 1,98 (ацилни вериги); (РА-А-2): 1,88, 2,91, (алкиламино вериги); 2,41 (NH-CH ₃); 3,10-3,80 (захари); 4,10-6,10 (пептидни CH); 6,38-8,49 (ароматни про- тони и пептидни NH). | 35 | Съединение 15 | 0,82, 1,13, 1,40, 1,98 (ацилни вериги); (АДА-А-1): 2,50 (NH-CH ₃); 1,72, 1,85, 2,73, 3,00 (алкиламино вериги); 3,10- 3,80 (захари); 4,10-6,10 (пептидни CH); 6,40-8,55 (ароматни протони и пептидни NH). |
| Съединение 10 | 0,84, 1,13, 1,39, 1,98 (ацилни вериги); (РА-А-3): 1,73, 2,82 (алкиламино вериги); 2,47 (NH-CH ₃); 3,10-3,80 (за- хари); 4,10-6,10 (пептидни CH); 6,37-8,70 (аромат- ни протони и пептидни NH); 9,20-10,4 (фенолни OH). | 45 | Съединение 16 | 0,84, 1,13, 1,41, 2,00 (ацилни вериги); |
| | | 50 | | |

(PyRA-A-1): 2,33 (NH-CH₃); 1,82,
2,16 (диметилпропиламид);
1,71, 3,23 (пиролдин);
3,10-3,80 (захари); 4,10-6,20
(пептидни СН);
6,38-8,40 (ароматни протони
и пептидни NH).

Съединение 24 0,84, 1,13, 1,40, 1,97 (ацилни
вериги); 2,10
(RA-A-4): (пиперазин CH₃); 3,38 (NH-
CH₃); 3,10-3,80
(захари) 4,05-6,07 (пептидни
СН); 6,38-8,49
(ароматни протони и
пептидни NH).

Съединение 25 0,84, 1,13, 1,40, 2,00 (ацилни
вериги);
(MA-A-4): 2,13 (пиперазин CH₃); 2,43
(NH-CH₃);
3,10-3,80 (захари) 3,63
(COOCH₃);
4,05-6,09 (пептидни СН);
6,38-8,49
(ароматни протони и
пептидни NH).

³¹P-NMR спектрите са записани при
161,98 MHz (съединение 12) или при 202,46 30
MHz (съединения 7 и 16) в ДМСО-d₆ разтвор
с 85% H₃PO₄ като вътрешен стандарт.

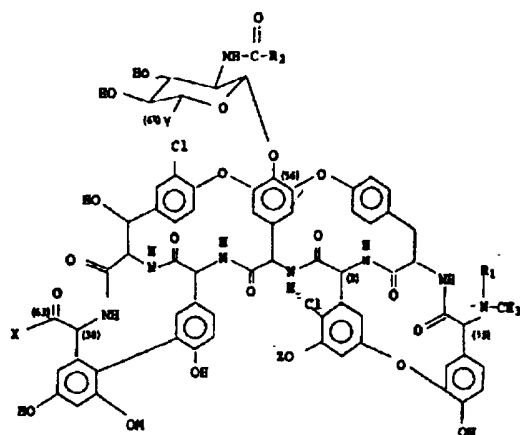
Съединение 7. (PyMA-A-1) (³¹P): един
сигнал при делта 24,12 ppm

Съединение 12. (PyA-A-1) (³¹P): един 35
сигнал при делта 23,50 ppm

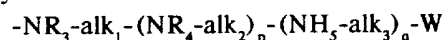
Съединение 16. (PyRA-A-1) (³¹P): един
сигнал при делта 24,11 ppm

Патентни претенции

1. Амидно производно на антибиотик А
40926 с формула

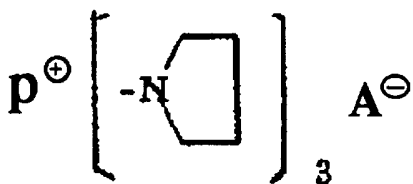


в която R₁ представлява водород или
защитна група на amino функцията; R₂ е (C₁-
C₁₂) алкил; М е водород, α-D-манопиранозил
или 6-0-ацетил - α -D-манопиранозил; Y е
карбокси, (C₁-C₄) алкоксикарбонил,
аминокарбонил, (C₁-C₄) алкиламинокарбонил,
ди(C₁-C₄) алкиламинокарбонил, като
алкиловият остатък може да носи заместител
като хидрокси, amino, (C₁-C₄) алкиламино и
ди(C₁-C₄) алкиламино или хидроксиметил; X
представлява хидрокси или aminoостатък с
формула



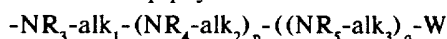
в която R₃ е водород или (C₁-C₄) алкил;
алк₁, алк₂ и алк₃ всяко независимо
представлява алкилен с 2 до 10 въглеродни
атома с права или разклонена верига; p и q са
цяло число, независимо едно от друго
представляват нула или 1; R₄ и R₅ - независимо
един от друг представляват водород, (C₁-C₄)
алкил, или R₃ и R₄ взети заедно представляват
(C₂-C₄) алкиленов остатък, свързващ двата
азотни атома, при условие че p е 1; или R₄ и
R₅ взети заедно представляват (C₂-C₄)
алкиленов остатък, свързващ двата азотни
атома, при условие, че p и q са 1; W е водород,
(C₁-C₄) алкил, amino, (C₁-C₄) алкиламино,
ди(C₁-C₄) алкиламино, amino, субституиран
с един или два amino(C₂-C₄) алкилови остатъка
или с един и два (C₁-C₄) алкиламино(C₂-
C₄) алкилови остатъка, или с един или два
ди(C₁-C₄) алкиламино(C₂-C₄) алкилови
остатъка, или когато p и q са нула, взети заедно
с остатъка -NR₃-алк₁-, може да бъде също
пиперазино или 4-метилпиперазино, при
условие, че когато X е хидрокси, Y е
хидроксиметил; Z е водород или група с

формула

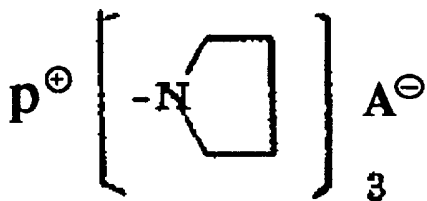


в която A^{\ominus} е анион на минерална или органична киселина, или когато функцията на карбоксилната киселина присъства в остатъчната част на антибиотика, той може също да представлява вътрешен анион, получен от посочената функция на карбоксилната киселина; и негови фармацевтично приемливи присъединителни соли.

2. Производно на антибиотик А 40926 съгласно претенция 1, в което R_1 е водород или защитна група на аминofункцията; R_2 е (C_9-C_{12}) алкил; М е водород, α -D-манопиранозил или 6-О-ацетил- α -D-манопиранозил, Y е карбокси, (C_1-C_4) алкоксикарбонил, аминокарбонил, (C_1-C_4) алкиламинокарбонил, ди (C_1-C_4) алкиламинокарбонил, като алкиловият остатък може да е субституиран с хидрокси, амино, (C_1-C_4) алкиламино и ди (C_1-C_4) алкиламино или хидроксиметил; X е хидрокси или аминоостатък с формула



в която R_3 , R_4 и R_5 са водород; алк₁, алк₂ и алк₃ независимо едно от друго са алкилен с права или разклонена верига с 2 до 4 въглеродни атома; p и q са цяло число и независимо един от друг са нула или 1; W е водород, (C_1-C_4) алкил, амино, (C_1-C_4) алкиламино, ди (C_1-C_4) алкиламино, амино, субституиран с един или два амино (C_2-C_4) алкилови остатъка или с един или два (C_1-C_4) -алкиламино (C_2-C_4) алкилови остатъка, или с един или два ди (C_1-C_4) алкиламино (C_2-C_4) алкилови остатъка, или когато p и q са нула, взети заедно с остатъка NR_3-alk_1- , може да бъде също пиперазино или 4-метилпиперазино, при условие, че когато X е хидрокси, Y е хидроксиметил; Z представлява водород или група с формула

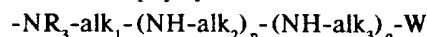


в която A^{\ominus} представлява анион на

минерална или органична киселина, или когато функцията на карбоксилната киселина присъства в остатъчната част на антибиотика, той може също да представлява вътрешен анион, получен от посочената функция на карбоксилната киселина и негови фармацевтично приемливи присъединителни соли.

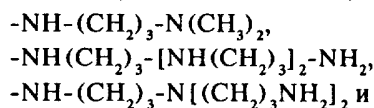
3. Производно на антибиотик А 40926 съгласно претенция 1, в което R_2 е (C_1-C_{11}) алкил, М е α -D-манопиранозил и R_1 , X, Y и Z имат значенията, посочени в претенция 1, и негови фармацевтично приемливи присъединителни соли.

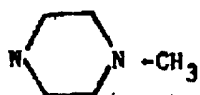
4. Производно на антибиотик А 40926 съгласно претенция 1, в което R_1 е водород или защитна група на аминofункцията; R_2 е 7-метилоктил, н.-нонил, 8-метилнонил, н.-децил, 9-метилдецил, н.-ундецил или н.-додещил; М е водород или α -D-манопиранозил; Y е карбокси, (C_1-C_4) алкоксикарбонил, аминокарбонил, (C_1-C_4) алкиламинокарбонил, ди (C_1-C_4) алкиламинокарбонил, като алкилният остатък може да е заместен с група като хидрокси, амино, (C_1-C_4) алкиламино и ди (C_1-C_4) алкиламино или хидроксиметил; X е аминоостатък с формула



в която R_3 е водород, алк₁, алк₂ и алк₃ независимо един от друг са алкилен с права верига с 2 до 4 въглеродни атома; p и q независимо един от друг са нула или 1, и W е амино, (C_1-C_4) алкиламино, ди (C_1-C_4) алкиламино, субституиран амино с един или два амино (C_2-C_4) алкилови остатъка, или когато p и q са нула, взети заедно с остатъка $-NR_3-alk_1-$, може да бъде пиперазино или 4-метилпиперазино; Z е водород, и негови фармацевтично приемливи присъединителни соли.

5. Производно на антибиотик А 40926 съгласно претенция 1, в което R_1 е водород; R_2 е 7-метилоктил, н.-нонил, 8-метилнонил, н.-децил, 9-метилдецил, н.-ундецил или н.-додещил; М е α -D-манопиранозил; Y е карбокси, метоксикарбонил, аминокарбонил, метиламинокарбонил, диметиламинокарбонил, (диметиламино)етиламинокарбонил или хидроксиметил; X е аминоостатък, избран от





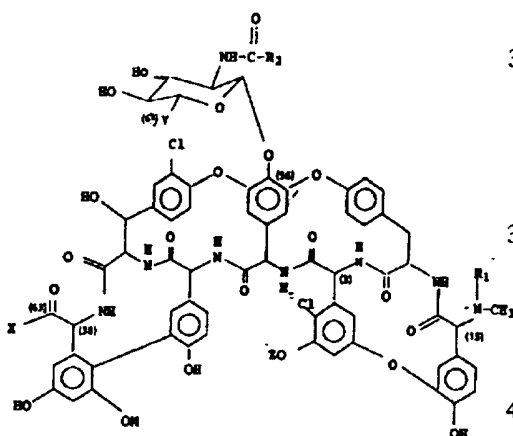
Z е водород, и негови фармацевтично приемливи присъединителни соли.

6. Производно на антибиотик А 40926 съгласно претенция 5, в което R₂ представлява н.-децил, 8-метилнонил, 9-метилдецил или н.-ундецил; R₁, M, Y, X и Z имат значенията, посочени в претенция 5, както и негови фармацевтично приемливи присъединителни соли.

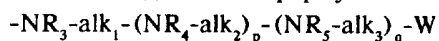
7. Производно на антибиотик А 40926 съгласно претенция 5, в което R₂ представлява 9-метилдецил, R₁, M, Y, X и Z имат значенията, посочени в претенция 5, и негови фармацевтично приемливи присъединителни соли.

8. Производно на антибиотик А 40926 съгласно претенция 5, в което Y е метоксикарбонил или хидроксиметил, X е -NH-(CH₂)₃-N(CH₃)₂, R₁, R₂, M и Z имат значенията, посочени в претенция 5, и негови фармацевтично приемливи присъединителни соли.

9. Производно на антибиотик А 40926 с формула



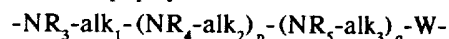
в която R₁ е водород или защитна група на аминofункцията; R₂ е (C₁₀-C₁₁)алкил; M е водород, α-D-манопиранозил или 6-0-ацетил-α-D-манопиранозил; Y е (C₁-C₄) алкоксикарбонил или хидроксиметил; X е хидрокси или съединение с формула



в която R₃ е водород или (C₁-C₄)алкил; алк₁, алк₂ и алк₃ са независимо един от друг алкилен с права или разклонена верига с 2 до

10 въглеродни атома; p и q са цяло число и поотделно представляват нула или 1; R₄ и R₅ независимо един от друг са водородни атоми, (C₁-C₄)алкил или R₃ и R₄ взети заедно представляват (C₂-C₄)алкиленов остатък, свързващ двата азотни атома, при условие че p е 1, или R₄ и R₅ взети заедно са (C₂-C₄)алкиленов остатък, свързващ двата азотни атома, при условие че p и q са 1; W е водород, (C₁-C₄)алкил, амино, (C₁-C₄)алкиламино, ди(C₁-C₄)алкиламино, амино, субституиран с един или два амино-(C₂-C₄)алкилови остатъка или с един или два (C₁-C₄)алкиламино-(C₂-C₄)алкилови остатъка, или с един или два ди(C₁-C₄)алкиламино-(C₂-C₄)алкилови остатъка, при условие, че когато X е хидрокси, Y е хидроксиметил; и техни фармацевтично приемливи присъединителни соли.

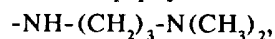
10. Производно на антибиотик А 40926 съгласно претенция 9, в което R₁ представлява водород или защитна група на аминofункцията; R₂ представлява (C₁₀-C₁₁)алкил; M представлява водород, α-D-манопиранозил или 6-0-ацетил-α-d-манопиранозил; Y е (C₁-C₄) алкоксикарбонил или хидроксиметил X е хидрокси или съединение с формула

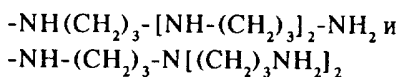


в която R₃, R₄ и R₅ са водород, алк₁, алк₂ и алк₃ независимо едно от друго са алкилен с права или разклонена верига с 2 до 4 въглеродни атома, p и q са цяло число и независимо един от друг са нула или 1; W е водород, (C₁-C₄)алкил, амино, (C₁-C₄)алкиламино, ди(C₁-C₄)алкиламино, или амино, субституиран с един или два амино-(C₂-C₄)алкилови остатъка, или с един или два ди(C₁-C₄)-алкиламино-(C₂-C₄)алкилови остатъка, при условие, че когато X е хидрокси, Y е хидроксиметил; и негови фармацевтично приемливи присъединителни соли.

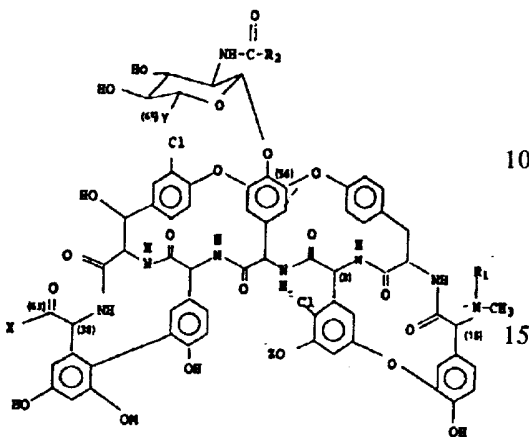
11. Производно на антибиотик А 40926 съгласно претенция 9, в което R₂ е 9-метилдецил, M е α-D-манопиранозил и R₁, X и Y имат значенията, дефинирани в претенция 9.

12. Антибиотично вещество съгласно претенция 9, в която R₂ представлява (C₁₀-C₁₁)алкил, за предпочитане 9-метилдецил, Y представлява (C₁-C₄)алкоксикарбонил, за предпочитане метоксиметил или хидроксиметил и X е някоя от формулите

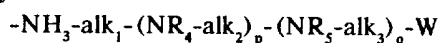




13. Метод за получаване на производно на антибиотик А 40926 с формула

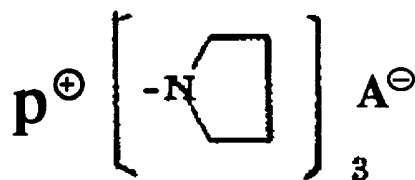


в която R_1 представлява водород или защитна група при аминокфункцията; R_2 е (C_9-C_{12}) алкил; M е водород, α -D-манопиранозил или 6-O-ацетил- α -D-манопиранозил; Y представлява карбокси, (C_1-C_4) алкоксикарбонил, аминокарбонил, (C_1-C_4) алкиламинокарбонил, ди (C_1-C_4) алкиламинокарбонил, в които алкилният остатък може да има заместител като хидроксид, amino, (C_1-C_4) алкиламино и ди (C_1-C_4) алкиламино или хидроксиметил; X представлява хидроксид или аминокостатък с формула



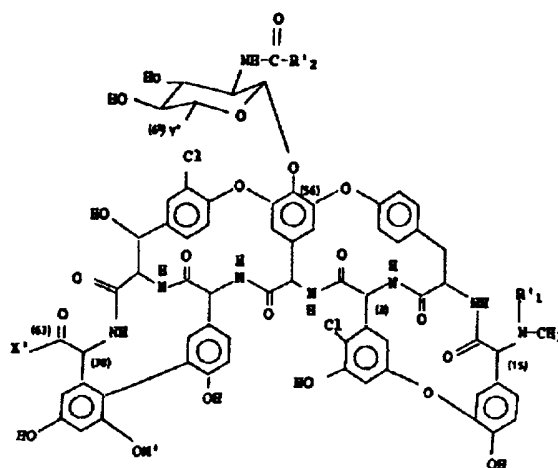
в която R_3 представлява водород или (C_1-C_4) алкил; alk_1 , alk_2 и alk_3 независимо един от друг са алкилен с права или разклонена верига с 2 до 10 въглеродни атома; p и q представляват нула или 1; R_4 и R_5 независимо един от друг представляват водород, (C_1-C_4) алкил, или R_3 и R_4 взети заедно представляват (C_2-C_4) алкиленов остатък, свързващ двата азотни атома, при условие че p е 1, или R_4 и R_5 взети заедно представляват (C_2-C_4) алкиленов остатък, свързващ двата азотни атома, при условие че p и q са 1; W е водород, (C_1-C_4) алкил, amino, (C_1-C_4) алкиламино, ди (C_1-C_4) алкиламино, amino, субституиран с един или два amino (C_2-C_4) алкилни остатъка, или с един или два (C_1-C_4) -алкиламино (C_2-C_4) алкилови остатъка, или с един или два ди (C_1-C_4) алкиламино- (C_2-C_4) алкилови остатъка, или когато p и q са нула, взети заедно с остатъка $-\text{NR}_3-\text{alk}_1-$, той може също да бъде

пиперазино или 4-метилпиперазино, при условие, че когато X е хидроксид, Y е хидроксиметил; X е водород или група с формула



в която A^{\ominus} представлява анион на минерална или органична киселина, или когато функцията на карбоксилната киселина присъства в останалата част на антибиотика, то може също да бъде вътрешен анион, получен от функцията на карбоксилната киселина, както и негови фармацевтично приемливи присъединителни соли, характеризиращи се с това, че

а) за получаване на съединение с формула I, в която R_1 , R_2 , M , Y и Z имат значенията, посочени в началото на тази претенция, и X е аминокостатък с формула $-\text{NR}_3-\text{alk}_1-(\text{NR}_4-\text{alk}_2)_p-(\text{NR}_5-\text{alk}_3)_q-\text{W}$ в която R_3 , R_4 , R_5 , alk_1 , alk_2 , alk_3 , p , q и W имат значенията, посочени в началото на тази претенция, съединение с формула



в която R'_1 , R'_2 и M' имат същите значения, както R_1 , R_2 и M , Y' е (C_1-C_4) алкоксикарбонил и X' е хидроксид, се подлага на амидиране с амин-реагент с формула $\text{NHR}_3-\text{alk}_1-(\text{NR}_4-\text{alk}_2)_p-(\text{NR}_5-\text{alk}_3)_q-\text{W}$ в която R_3 , R_4 , R_5 , alk_1 , alk_2 , alk_3 , p , q и W имат значенията, посочени в присъствието

на кондензиращ агент, или чрез образуване на "активиран естер" при C^{63} на карбоксилната киселина, и

1) съответно, полученото производно с формула I, в която Y е (C_1-C_4) -алкоксикарбонил, R_1 е подходяща защитна група на N^{15} -аминофункцията и всички други заместители имат значенията, посочени по-горе, се подлага на редукционен процес с борохидрид на алкален метал и по подходящ начин N^{15} -защитната група се отделя до получаване на съответното съединение, в което Y е хидроксиметил и R_1 е водород;

2) или полученото производно с формула I, в която Y е (C_1-C_4) -алкоксикарбонил или хидроксиметил, R_1 е подходяща защитна група на N^{15} -амино функцията, R_2 , M и Z имат дадените по-горе значения и X е аминокостатък $-NR_3-alk_1-NHR_4$, в който R_3 , R_4 всеки поотделно е водород или (C_1-C_4) алкил и алк₁ има значението, посочено по-горе, или $-NR_3-alk_1-NR_4-alk_2-NHR_5$, като R_3 , R_4 , R_5 независимо един от друг са водород или (C_1-C_4) алкил, алк₁ и алк₂ имат значенията, посочени по-горе, се алкилира с амин с формула IV или IVa съответно, $\gamma-alk_2-(NR_5-alk_3)_q-W$, IV, $\gamma-alk_3-W$, IVa, като заместителите R_3 , алк₂, алк₃ и W имат посочените по-горе значения, q е 0 или 1, и γ представлява хало, метансулфонил или тозил, в присъствие на акцептор на киселина в инертен разтворител и евентуално N^{15} -защитната група се отделя;

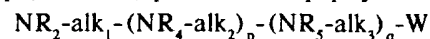
3) или полученото производно с формула I, в която Y е (C_1-C_4) алкоксикарбонил и всички други заместители имат посочените по-горе значения, се обработва с воден хидроксид на алкален метал до получаване на съответното съединение, в което Y е карбокси;

4) или полученото производно с формула I, в която M е α -D-манопиранозил или 6-0-ацетил- α -D-манопиранозил и всички други заместители имат значенията, посочени по-горе, се подлага на кисела хидролиза до получаване на съответното съединение, в което M е водород;

б) за получаване на съединение с формула I, в която R_1 , R_2 , X и M са дефинирани, както в началото на тази претенция, Y е хидроксиметил и Z е водород, то съединение с формула II, в която R'_1 е подходяща защитна група за аминокостатък N^{15} функцията, R'_2 е същото като R_2 , Y' е (C_1-C_4) алкоксикарбонил и X' е

хидрокси, се подлага на редукция с борохидрид на алкален метал и евентуално N^{15} -защитната група се отделя до получаване на съответното съединение, в което R_1 е водород,

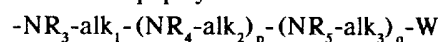
1) евентуално полученото съединение с формула I, в която Y е хидроксиметил, X е хидрокси, и всички други заместители са както по-горе, се амидира с амин с формула



в която R_3 , R_4 , R_5 , алк₁, алк₂, алк₃, p, q и W имат значенията, посочени по-горе, в присъствие на кондензиращ агент или чрез образуване на "активен естер" на C^{63} карбоксилната киселина в инертен органичен разтворител;

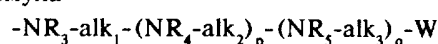
в) за получаване на съединение с формула I, в която R_1 , R_2 , M и Z имат значенията, посочени в началото на тази претенция, Y и остатъкът COX представляват същата група (C_1-C_4) -аминокарбонил, ди (C_1-C_4) алкиламинокарбонил, като алкилният остатък може да има заместител като аминокостатък, (C_1-C_4) алкиламино и ди (C_1-C_4) алкиламино, то съединение с формула II, в която R'_1 , R'_2 и M са дефинирани както R_1 , R_2 и M, Y' е карбокси и X' е хидрокси, се подлага на амидиране, както е описано в стадий а), при което заместителите R_3 , R_4 , R_5 , алк₁, алк₂, p, q и M имат подходящи значения, съвместими с дефинирания карбоксамен остатък Y и COX;

г) за получаване на съединение с формула I, в която R_1 , R_2 , M и Z имат значенията от началото на тази претенция, Y и остатъкът COX представляват различни карбоксаменни остатъци, значенията на Y може да бъде аминокостатък, (C_1-C_4) алкиламинокарбонил, ди (C_1-C_4) алкиламинокарбонил, като алкилният остатък може да има заместител като хидрокси, аминокостатък, (C_1-C_4) алкиламино и ди (C_1-C_4) алкиламино, а X може да означава аминокостатък с формула



в която R_3 , R_4 , R_5 , алк₁, алк₂, алк₃, p, q и W имат значенията, посочени в началото на тази претенция;

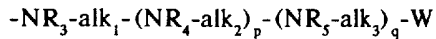
1) производно с формула I, в която R_1 , R_2 , M и Z са както по-горе, X е аминокостатък с формула



в която R_3 , R_4 , R_5 , алк₁, алк₂, алк₃, p, q и W имат значенията посочени по-горе, и Y е

карбокси, се подлага на амидиране с подходящ амин до образуването на вече дефинирания карбоксамиден остатък Y в присъствие на кондензиращ агент, или

2) производно с формула I, в която R₁ представлява защитна група на N¹⁵-аминофункцията, R₂, M и Z са както по-горе, и X представлява аминокостатък с формула



в която R₃, R₄, R₅, алк₁, алк₂, алк₃, p, q и W имат значенията по-горе, и Y е карбокси, се превръща в съответния активиран естер в позиция б⁶ и този активиран естер реагира с подходящ амин до образуване на дефинирания по-горе карбоксамиден остатък Y и по желание се отделя N¹⁵-защитната група до получаване на съответното съединение, в което R₁ е водород.

14. Метод съгласно претенция 13, характеризиращ се с това, че в стадий а), б) 1), в) и г) 1) процесът на амидиране протича в инертен органичен разтворител в присъствие на кондензиращ агент, избран от (C₁-C₄)алкил, фенил, хетероциклични фосфоазидати и бензотриазолилокси-трис-(пиролидино)фосфониев хексафлуорофосфат при температура между 0°C и 20°C.

15. Метод съгласно претенция 13, характеризиращ се с това, че процесът на амидиране в стадий а), б) 1), в) и г) 2) протича чрез превръщане на изходното карбоксилно съединение с формула II в неговия съответен активиран естер, за предпочитане защитен при N¹⁵-аминофункцията, и после активираният естер реагира с моларен излишък от амин с формула III в присъствие на органичен полярен разтворител при температура между 5°C и 60°C за предпочитане между 10 и 30°C.

16. Метод съгласно претенция 15, характеризиращ се с това, че активираният естер е цианометиллов естер и моларното му съотношение спрямо амина е от 1:5 до 1:30.

17. Метод съгласно претенция 16, характеризиращ се с това, че цианометилловият естер се получава чрез реакция на изходната карбоксилна киселина с формула II, за предпочитане защитена при N¹⁵-аминофункцията, с 20 до 30 моларен излишък от хлороацетонитрил в присъствие на инертен органичен разтворител и основа, която не влиза във взаимодействие по време на реакцията при температура между 5°C и 60°C, за

предпочитане между 10°C и 30°C.

18. Метод съгласно претенция 13, характеризиращ се с това, че в стадий а) 1) и б) моларното съотношение между борохидрида на алкалния метал и съединението с формула II е между 50 и 300, и реакцията протича при температура между 0°C и 40°C, за предпочитане при стайна температура.

19. Метод съгласно претенция 14, характеризиращ се с това, че използваният инертен органичен разтворител е избран от диметилформаид, диметоксиетан, хексаметиленфосфораид, диметилсулфоксид и тяхна смес.

20. Метод съгласно претенция 15, характеризиращ се с това, че органичният полярен разтворител може да бъде нисши алканоли, диметилформаид, хексаметилфосфораид, 1,3-диметил-3,4,5,6-тетрахидро-2(1H)-пиримидон, диметилсулфоксид и диметоксиетан.

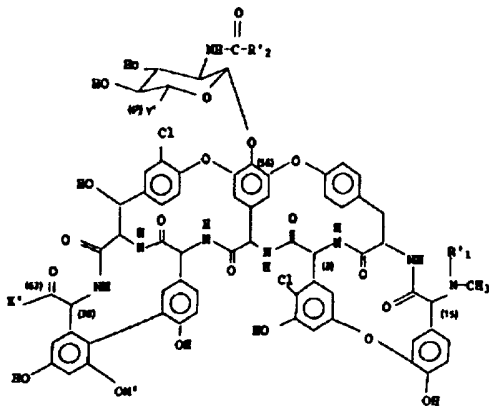
21. Метод съгласно претенция 18, характеризиращ се с това, че борохидридът на алкалния метал е избран между натриев борохидрид, калиев борохидрид и реакционният разтворител е смес от вода и водно разтворим или частично разтворим нисш алканол и евентуално се прибавя диетилов етер като противопенещ агент.

22. Метод съгласно претенция 13, характеризиращ се с това, че N¹⁵-защитната група е терц.-бутоксикарбонил или карбобензилокси и тази защитна група евентуално се елиминира в края на процеса на амидиране.

23. Метод съгласно претенция 13, характеризиращ се с това, че една или повече аминокоспуни от амина с формула III, които не участват в образуването на амидна връзка, е/са защитена/ни преди посоченият амин да участва в реакцията на амидиране и е/са разделени от защитната група след приключване на реакцията.

24. Метод за получаване на антибиотично вещество съгласно претенция 9, характеризиращ се с това, че

а) за получаване на съединение с формула I, в която Y е хидроксиметил, X е хидрокси, R₁, R₂ и M имат значенията, дефинирани в претенция 9, съединение с формула II



в която X' е хидрокси, Y' е (C_1-C_4) алкоксикарбонил и R'_1 е подходяща защитна група на аминofункцията, се подлага на редуциране с борохидрид на алкален метал, за предпочитане натриев борохидрид, калиев борохидрид или натриев цианоборохидрид при температура между 0°C и 40°C във водна или хидроалкохолна среда и евентуално елиминирание на защитната група, и

б) за получаване на съединение с формула I, в която X представлява остатъка $-NR_3-alk_1-(NR_4-alk_2)_p-(NR_5-alk_3)_q-W$ и $Y, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, alk_1, alk_2, p, q$ и M имат посочените в претенция 9 значения, чрез

1) кондензацията на карбоксилно съединение с формула II, в която X' е хидрокси, Y' е (C_1-C_4) алкилоксикарбонил и R'_1 е подходяща защитна група на аминofункцията,

или карбоксилно съединение с формула I, в която R_2 и M имат значенията, посочени по-горе, Y е хидроксиметил, X е хидрокси и R_1 е подходяща защитна група на аминofункцията, с излишък от подходящ амин с формула

$$NHR_3-alk_1-(NR_4-alk_2)_p-(NR_5-alk_3)_q-W$$

в която $R_3, R_4, R_5, alk_1, alk_2, alk_3, p, q$ и W имат значенията, посочени по-горе, в инертен органичен разтворител в присъствие на кондензиращ агент, избран от (C_1-C_4) алкил, фенил, или хетероциклични фосфороазидати, при температура между 0°C и 20°C , и евентуално елиминирание на защитната група на аминofункцията, или

2) превръщането на дефинираното по-горе карбоксилно съединение с формула II или I в неговия съответен активиран естер и реакцията на този естер (активиран естер) с посочения по-горе амин III в присъствие на органичен полярен разтворител при температура между 5°C и 60°C , за предпочитане между 10°C и 30°C , и евентуално следващо елиминирание на защитната група на аминofункцията.

25. Използване на съединение с обща формула I, като лекарство средство.

26. Използване на съединение с обща формула I, за получаване на лекарство средство за лечение на бактериални инфекции.

27. Лекарство средство, характеризиращо се с това, че съдържа съединение с обща формула I като активна съставка.

Издание на Патентното ведомство на Република България
София - 1113, бул. "Г. М. Димитров" 52-Б

Експерт: Р. Йовович

Редактор: В. Алтаванова

Пор. 38285

Тираж: 40 СК

